网络出版时间: 2017 - 8 - 20 16:47 **网络出版地址:** http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1086.R.20170820.1647.018.html

荭草素抑制 3T3-L1 前脂肪细胞分化及其改善胰岛素抵抗的作用研究

何彦峰[1],李 刚[2],盖祥云[1],林鹏程[1],王洪伦[2]

(1. 青海民族大学药学院,青海 西宁 810007;2. 中国科学院西北高原生物研究所,青海 西宁 810001)

doi:10.3969/j.issn.1001 - 1978.2017.09.009

文献标志码: A **文章编号:** 1001 - 1978(2017)09 - 1221 - 06

中国图书分类号: R284.1; R329.24; R458.5; R587.1; R977.3; R977.6

摘要: **目的** 研究荭草素对 3T3-L1 前脂肪细胞分化及对脂肪细胞胰岛素抵抗的影响,并探讨其作用机制。**方法** 传统鸡尾酒法诱导分化 3T3-L1 前脂肪细胞,MTT 法检测荭草素对前脂肪细胞活力的影响,油红 O 染色法检测脂质积累,酶法检测细胞内甘油三酯(triglyceride, TG)的含量。地塞米松诱导成熟的脂肪细胞,建立胰岛素抵抗模型,荧光标记 2-脱氧葡萄糖(2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diaxol-4-yl) amino]-2-deoxyglucose,2-NBDG)摄入法观察脂肪细胞对葡萄糖的摄取能力;Western blot 检测腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK)、乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)的磷酸化水平及葡萄糖转运体 4(glucose transporter type 4, GLUT4)的表达水平,免疫荧光法检测 GLUT4 的向膜转位能力。**结果** 荭草素可浓度依赖性地减少细胞脂滴的积累及细胞内 TG 的含量,但对细胞活力无明显的影响($P > 0.05$)。胰岛素抵抗状态下,荭草素明显增加脂肪细胞对 2-NBDG 的摄取($P < 0.05$),明显上调 AMPK、ACC 的磷酸化水平($P < 0.05$),促进 GLUT4 的向膜转位及表达。**结论** 荭草素抑制前脂肪细胞的分化,同时,荭草素通过上调 AMPK/GLUT4 信号途径相关蛋白的表达,促进了细胞对葡萄糖的摄取,达到改善胰岛素抵抗的作用。

关键词: 荭草素; 3T3-L1 脂肪细胞; 分化; 胰岛素抵抗; p-ACC; p-AMPK; GLUT4

收稿日期: 2017 - 05 - 15,**修回日期:** 2017 - 06 - 27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No 31470426);青海省自然科学基金资助项目(No 2016-ZJ-929Q)

作者简介: 何彦峰(1986 -),男,博士,副教授,研究方向:药学,通讯作者,E-mail: yfhe_629@163.com;

王洪伦(1979 -),男,博士,研究员,研究方向:天然药物化学,通讯作者,E-mail: hlwang@nwipb.cas.cn

脂肪组织是胰岛素作用的主要靶器官之一,脂肪细胞增殖分化失常,会导致脂肪过度堆积、脂肪细胞内分泌功能紊乱,继而引起肥胖症和胰岛素抵抗。处于胰岛素抵抗状态的器官或组织,对胰岛素的反应敏感性会下降。当脂肪组织出现胰岛素抵抗时,细胞的葡萄糖摄取能力下降,而肝糖原的合成减少,

---

sis progression and reverse. **Methods** C57BL/6 mouse model was established by subcutaneous injection of carbon tetrachloride(CCl_4). After a successful model of fibrosis, one-month normal diet was given to induce the reverse fibrosis model, while normal mice of the same gender and weight were as control group. Mice were sacrificed at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 weeks, respectively, then the liver tissue was harvested for the observation of its injury by hematoxylin and eosin(HE) staining. Then Masson staining was applied for the detection of changes in collagen, and the immunohistochemistry(IHC) for the observation of type Ⅰ Collagen(Colla-1), alpha smooth muscle actin(α-SMA), transforming growth factor beta 1(TGF-β1) and SOCS3 protein expression. *In vitro* formation of fibrosis was induced by TGF-β1 stimulating HSC-T6 cell lines, which was then reversed by MDI medium, with co-incubation of HSC-T6 cells with plasmid in the process of the reverse. Western blot was employed to detect SOCS3, Colla-1, α-SMA, TGF-β1 expression. **Results** The expression of SOCS3 and TGF-β1 increased in mouse model of fibrosis with the worsening fibrosis process and decreased in the reverse process. Over-expression SOCS3 in the reverse process reduced the development of liver fibrosis; meanwhile, the expression of TGF-β1 was also reduced accordingly. **Conclusion** SOCS3 may influence the development of the liver fibrosis and its reverse via regulating the expression of TGF-β1.

Key words: SOCS3; liver fibrosis; reverse liver fibrosis; TGF-β1; HSC T6; MDI

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

并且加速肝糖原的分解和释放，致使血糖升高。此外，异常分化的脂肪细胞会分泌大量脂肪细胞因子，进一步诱导肝脏和骨骼肌等组织发生胰岛素抵抗，最终引发全身性糖脂代谢的紊乱，进而引起 II 型糖尿病的发生[1-2]。所以，胰岛素抵抗被认为是肥胖引发 2 型糖尿病的枢纽。因此，研究调控脂肪细胞胰岛素抵抗发生和发展的分子机制，寻找能抑制前体脂肪细胞分化和改善胰岛素抵抗的药物，对于治疗肥胖和糖尿病有重要的意义。

胡芦巴(*Trigonella foenum-graecum* L.)是豆科胡芦巴属的一年生草本植物，其种子又名胡芦巴。黄酮类化合物是胡芦巴的主要活性成分之一，已有研究发现其具有抗氧化、调血脂、增强免疫力等药理作用[3]。荭草素(orientin)是胡芦巴黄酮类化合物的主要成分之一，具有抗炎、抗凝血、抗氧化、保护心脏等活性[4-5]。Kim 等[6]发现，荭草素对 3T3-L1 脂肪细胞中脂质的积累具有一定的抑制作用。然而，有关荭草素抑制 3T3-L1 前脂肪细胞分化，改善胰岛素抵抗作用机制的研究报道较少。本研究以 3T3-L1 前脂肪细胞和分化成熟的 3T3-L1 脂肪细胞为靶细胞，分别考察荭草素对 3T3-L1 前脂肪细胞活力和分化的影响，以及荭草素对胰岛素抵抗 3T3-L1 脂肪细胞糖脂代谢的影响，探讨荭草素改善胰岛素抵抗的作用及其分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂 3T3-L1 前脂肪细胞，购自中国典型培养物保藏中心。荭草素(纯度 >96%)，本实验室自制；DMEM 高糖培养基、胎牛血清，Gibco 公司；MTT、DMSO、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMX)、地塞米松、胰蛋白酶、油红 O，Sigma 公司；荧光标记 2-脱氧葡萄糖(2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diaxol-4-yl) amino]-2-deoxyglucose，2-NBDG)，Invitrogen 公司；BCA 蛋白测定试剂盒、甘油三酯测定试剂盒，北京普利莱基因技术有限公司；腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase，AMPK)、乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl CoA carboxylase，ACC)、葡萄糖转运体 4(glucose transporter type 4，GLUT4)等抗体，Santa Cruz 公司；其他试剂为国产分析纯。

1.2 仪器与设备 SpectraMax Paradigm 型多功能酶标仪，美国美谷分子仪器有限公司；DYCZ-24DN 型电泳槽电泳仪，北京六一仪器厂；HC-3018R 型高速冷冻离心机，安徽中科中佳科学仪器有限公司；Tanon 5200 凝胶成像系统，上海天能公司；激光共聚焦显微镜，Olympus 公司。

1.3 方法

1.3.1 荭草素储备液的制备 荭草素溶液采用 DMSO 溶解，配置成 200 mmol·L^{-1} 的储备液，0.22 μm 滤膜过滤除菌，使用时采用 DMEM 细胞培养基稀释至所需浓度。

1.3.2 3T3-L1 前脂肪细胞的培养及诱导分化 前脂肪细胞使用 DMEM 完全培养基，于 37℃、5% CO_2、饱和湿度的培养箱中培养。待生长至对数期，胰酶消化，接种于 6 孔板。待细胞发生接触抑制后 2 d，即为 d 0，换诱导液 I(含 0.5 mmol·L^{-1} IBMX、1 μmol·L^{-1} 地塞米松、10 mg·L^{-1} 胰岛素的完全培养基)；继续培养 2 d 后，换诱导液 II(含 10 mg·L^{-1} 胰岛素的 DMEM 完全培养基)；继续培养 2 d，换 DMEM 培养基，隔 2 d 换液 1 次，至 90% 以上 3T3-L1 细胞呈现脂肪细胞表型。

1.3.3 MTT 法测定细胞活力 取对数生长期的前脂肪细胞，接种于 96 孔板中，孵育 12 h，换以含不同浓度荭草素(5、10、25、50 μmol·L^{-1})的完全培养基，另设诱导组(Induce，不加荭草素)，继续培养 48 h。于实验结束前 4 h，加 20 μL 新鲜配制的 MTT 溶液，4 h 后弃培养基，每孔加入 150 μL DMSO 充分溶解结晶物。测定 570 nm 波长下的吸光度 A。细胞活力/%($A_{处理}/A_{对照}$)×100%。

1.3.4 油红 O 染色及甘油三酯(triglyceride，TG)含量检测 诱导分化的同时，于培养基中加入不同浓度的荭草素，连续处理 8 d 后，4% 多聚甲醛固定 30 min，加油红 O 染液孵育 1 h，吸弃染液，70% 乙醇浸洗，显微镜下观察脂滴形成情况并拍照。每孔加入 150 μL 异丙醇，溶解油红 O 染料，于酶标仪上测定 490 nm 波长处的吸光度 A，以($A_{处理}/A_{对照}$)×100% 评价细胞脂质积累。同时，采用 TG 酶法测定试剂盒，裂解收集细胞，测定细胞内 TG 含量，BCA 法测定蛋白浓度，以 mmol·g^{-1} Pro 校正细胞内 TG 含量。

1.3.5 建立 3T3-L1 脂肪细胞胰岛素抵抗模型 参考文献[7]方法，取诱导分化成熟的 3T3-L1 脂肪细胞，分为诱导组(Induce)和模型组(Model)。诱导组用 10% 胎牛血清 DMEM 高糖培养基，模型组用含 1 μmol·L^{-1} 地塞米松、10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基处理 4 d，动态测定 2-NBDG 摄取，确定建模成功后，分组处理。

1.3.6 细胞 2-NBDG 摄取的测定 参考文献[8]的方法，将胰岛素抵抗状态的 3T3-L1 脂肪细胞(简称 IR 脂肪细胞，下同)接种于 96 孔荧光板，在无血清、低糖培养基中孵育 12 h，然后设模型组和不同浓度

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

荭草素组，处理 24 h，用含 20 μmol·L^{-1} 2-NBDG、100 nmol·L^{-1} 胰岛素避光孵育 1 h。弃去培养基，PBS 漂洗 2 次，在激发波长 488 nm，发射波长 520 nm 条件下测定，通过检测细胞荧光强度来评估脂肪细胞葡萄糖摄取量。

1.3.7 Western blot 法检测蛋白表达 IR 脂肪细胞加药处理 48 h，按照试剂盒说明书抽提细胞膜蛋白和总蛋白，BCA 法测定蛋白浓度。样品蛋白进行变性处理后，用 10% 的 SDS-PAGE 分离胶、5% 的浓缩胶分离蛋白，转膜，5% BSA 封闭，用 1∶1 000稀释的兔抗 p-AMPK、t-AMPK、p-ACC、t-ACC、GLUT4 一抗在 4℃条件下孵育过夜，TBST 洗 3 次，再用 1∶5 000稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h，TBST 洗 3 次，显影后拍照，并分析蛋白产物条带的相对光密度值。

1.3.8 免疫荧光法检测 GLUT4 的表达 将细胞接种于预置盖玻片的 24 孔板内，不同浓度的荭草素处理 48 h 后，用 PBS 漂洗 3 次，4% 多聚甲醛固定 20 min，5% BSA 封闭 60 min，加入兔抗鼠 GLUT4(1∶1 000稀释)，4℃ 湿盒过夜；次日，用 PBS 漂洗 3 次；加入 FITC 标记的羊抗兔 IgG 二抗(1∶500 稀释)，室温孵育 2 h，PBS 漂洗 3 次，10 mg·L^{-1} DAPI 染色 3 min 后，激光共聚焦显微镜下观察并成像。

1.4 统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示，用 SPSS 22.0 统计学分析软件进行数据统计分析，以 F 检验进行组间统计学差异比较。

2 结果

2.1 荭草素对脂肪细胞活力及分化的影响 荭草素 5～50 μmol·L^{-1} 范围内，对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖活力无影响($P>0.05$)，见 Fig 1。与对照组相比，诱导组细胞内形成较大脂滴，且呈戒环样结构，表明 3T3-L1 细胞已分化成熟。荭草素干预后，细胞内脂滴数量明显减少(Fig 2A)；与诱导组相比较，荭草素能降低细胞脂质积累($P<0.01$)，同时浓度依赖性地减少了前脂肪细胞内 TG 含量($P<0.01$)，见 Fig 2B、2C。

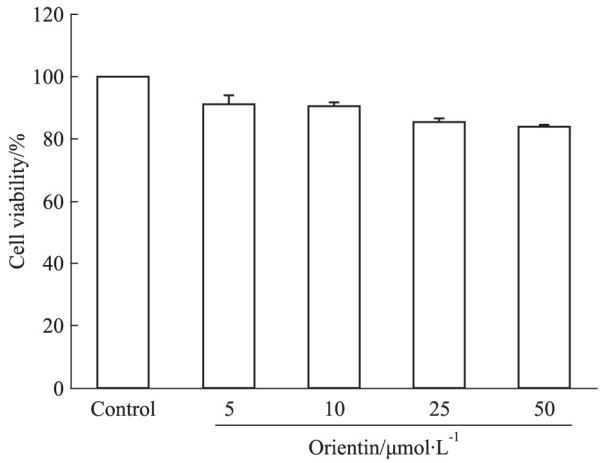

Fig 1 Effect of orientin on cell viability of 3T3-L1 preadipocytes

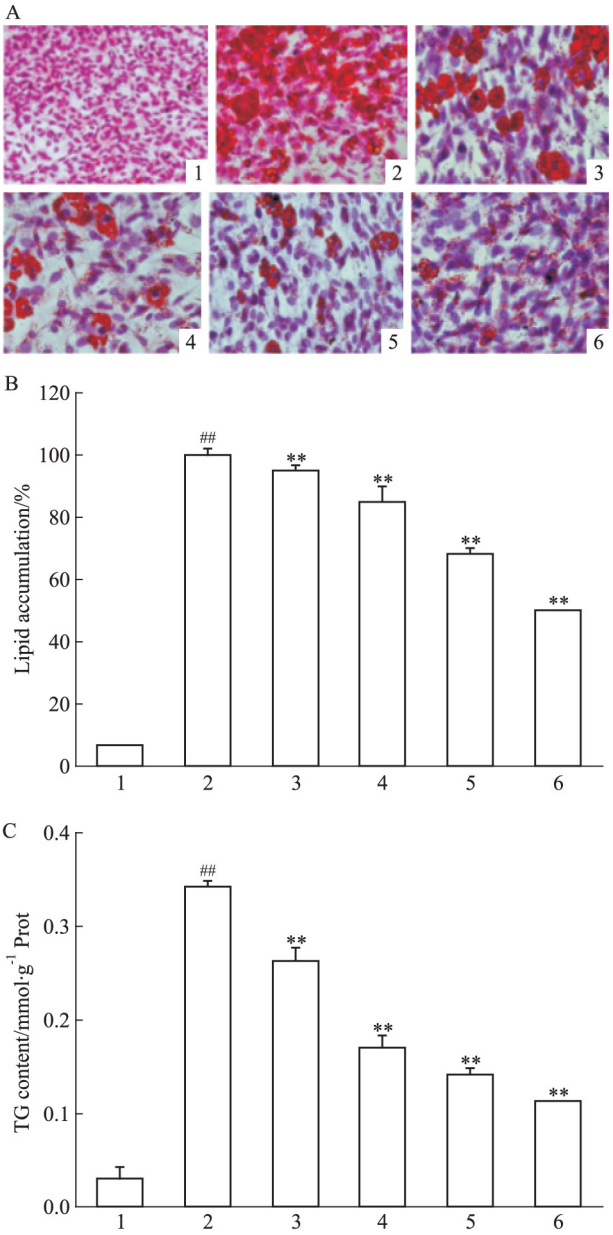

Fig 2 Effect of orientin on (A) formation of lipid droplets (oil red O and hematoxylin staining, 200×), (B) lipid accumulation, and (C) intracellular TG content in 3T3-L1 pre-adipocytes ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

1: Control; 2: Induce; 3: Orientin 5 μmol·L^{-1}; 4: Orientin 10 μmol·L^{-1}; 5: Orientin 25 μmol·L^{-1}; 6: Orientin 50 μmol·L^{-1}; Control: Undifferentiated 3T3-L1 pre-adipocytes; Induce: Differentiated mature 3T3-L1 adipocytes. $^{\#\#}P<0.01$ *vs* control; $^{**}P<0.01$ *vs* induce

2.2 荭草素对 IR 脂肪细胞葡萄糖摄取 由 Fig 3 可见，采用 1 μmol·L^{-1} 地塞米松诱导处理 4 d，相对于诱导组，模型组的 2-NBDG 摄取能力下降($P<$

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

0.01)，确定 IR 建模成功。与模型组相比较，荭草素各浓度组不同程度促进了 IR 脂肪细胞对葡萄糖的摄取利用，2-NBDG 摄取量较对照组明显增加($P<0.05$，$P<0.01$)。

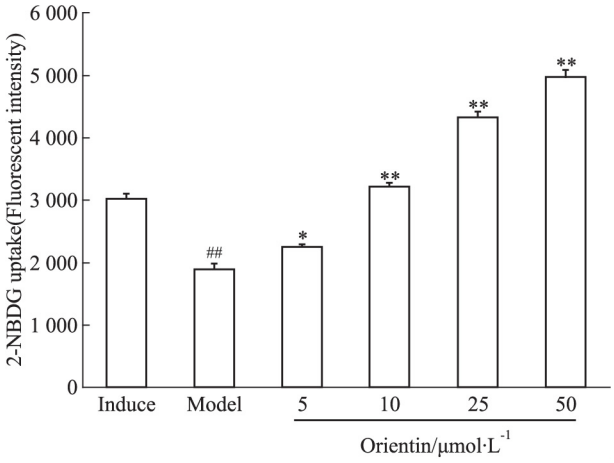

Fig 3 Effects of orientin on glucose uptake in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Induce: Differentiated mature 3T3-L1 adipocytes; Model: Dexamethasone induced insulin-resistant mature adipocytes. $^{\#\#}P<0.01$ *vs* induce; $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ *vs* model

2.3 荭草素对糖脂代谢相关蛋白表达的影响 采用 Western blot 检测 IR 脂肪细胞内 AMPK、ACC 的磷酸化水平。如 Fig 4 所示，与模型组相比较，荭草素能明显上调 AMPK、ACC 的磷酸化水平($P<0.05$，$P<0.01$)。

2.4 荭草素对 GLUT4 表达的影响 Fig 5 免疫荧光检测结果显示，荭草素能增强细胞质及细胞膜 GLUT4 表达，细胞核内未见表达。与模型组相比较，荭草素浓度在 10 ~ 50 μmol · L^{-1} 范围内，能上调细胞膜上 GLUT4 的蛋白表达水平(Fig 6)，与免疫荧光检测结果相符。

3 讨论

3T3-L1 前脂肪细胞目前在国内外被广泛应用于脂肪细胞功能及糖脂代谢障碍的病理生理学研究。研究结果发现，荭草素能浓度依赖性地抑制 3T3-L1 细胞的分化，减少脂肪细胞 TG 含量，且对细胞增殖活力没有影响，表明荭草素具有潜在的减肥降脂功效。

建立 IR 模型可以在细胞及分子水平深入研究 IR 的发生机制、体外筛选改善 IR 的药物[9]。采用 1 μmol · L^{-1} 地塞米松诱导成熟的脂肪细胞 4 d 后，细胞对 2-NBDG 摄取能力降到最低，即 IR 状态达到最佳。然后，考察荭草素对 IR 脂肪细胞葡萄糖摄取的影响。结果发现，荭草素增加了细胞对 2-NBDG 的摄取能力，并呈现剂量依赖性，表明荭草素对 IR 脂肪细胞糖代谢具有改善作用。

AMPK 是细胞糖脂代谢的关键调控因子，其活

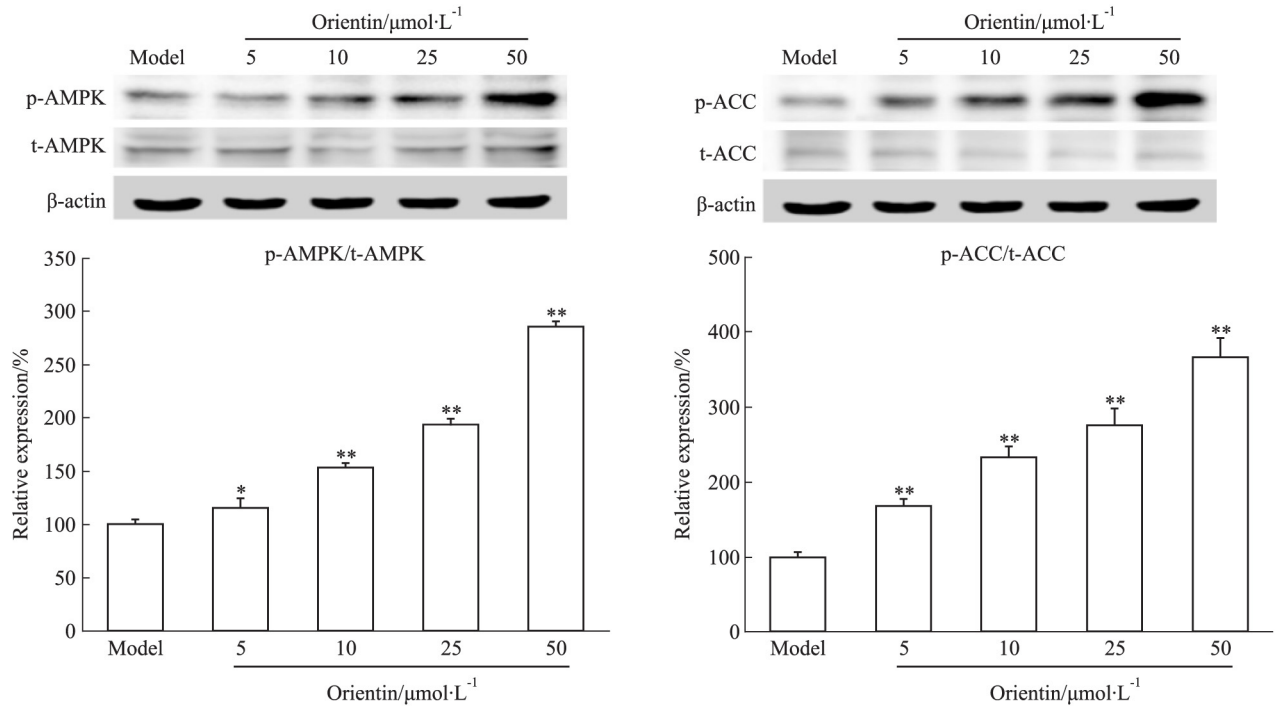

Fig 4 Orientin up-regulates AMPK and ACC phosphorylation in insulin-resistant adipocytes($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ *vs* model

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

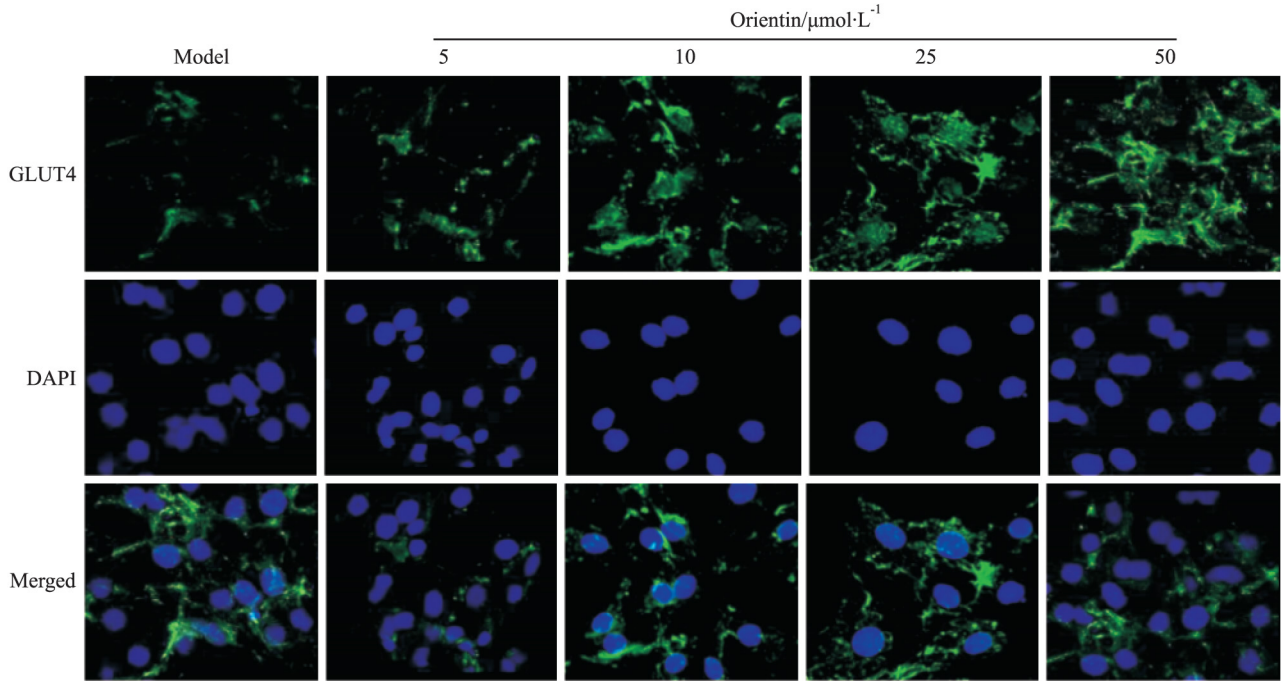

Fig 5 Orientin enhances translocation of GULT4 to cell membranes in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes

The GLUT4 expression was observed by confocal laser-scanning microscope after fluorescent immunocytochemical staining(400 ×) FITC labeled GLUT4 protein appeared on the cell membrane(green) and DAPI dye for fluorescent staining of DNA(blue)

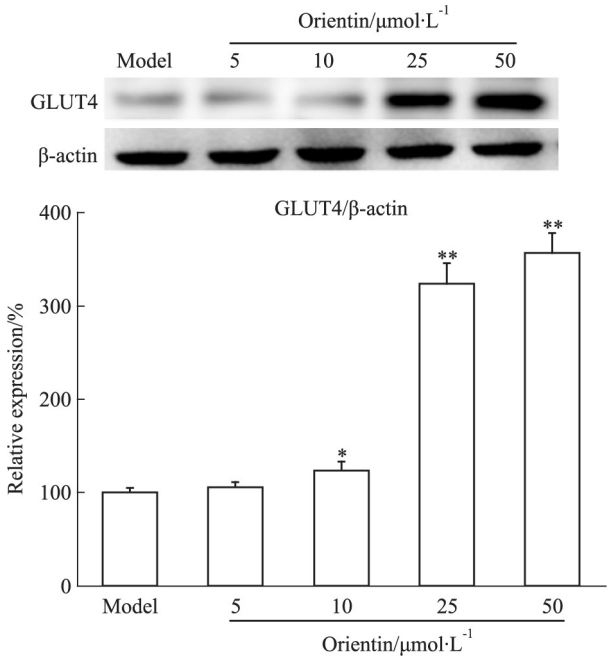

Fig 6 Protein expression of cell surface GLUT4 in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes treated with orientin($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ *vs* model

化可增强各组织的胰岛素敏感性。ACC 是脂肪酸合成的关键酶,活化的 AMPK 可以使 ACC 磷酸化,从而抑制脂肪酸的合成,促进脂肪酸氧化[10-11]。在胰岛素刺激下,GLUT4 从囊泡转位至细胞膜,将细胞外的葡萄糖摄取进入细胞。GLUT4 表达数量的减少或转位受阻皆有可能引起胰岛素抵抗[12]。AMPK 可诱导 GLUT4 向质膜转移,并通过磷酸化转录因子开启 GLUT4 基因的表达,促进外周组织的葡萄糖摄取,从而对胰岛素抵抗和糖尿病等起到治疗作用。在药效研究基础上,进一步考察了荭草素对 IR 脂肪细胞调控糖脂代谢相关蛋白表达水平及对 GLUT4 向膜转位的影响。结果发现,荭草素能明显上调 AMPK 和 ACC 的磷酸化水平,同时促进了 GLUT4 向膜转位及其蛋白表达水平。表明荭草素可能通过上调 AMPK/GLUT4 信号途径相关蛋白的表达,促进了细胞对葡萄糖的摄取,从而改善脂肪细胞的 IR。

综上所述,荭草素可抑制前脂肪细胞的分化,降低细胞内 TG 的含量;同时,荭草素能激活 AMPK、ACC 的磷酸化水平,进而促进 GLUT4 的表达和向膜转位,从而促进了 IR 脂肪细胞的葡萄糖摄取,改善了脂肪细胞 IR。

(致谢:本实验在烟台大学生命科学学院,线粒体与健康衰老研究中心完成,衷心感谢实验室全体教师的指导和同学的帮助!)

参考文献:

[1] 涂 珺,罗新新,李冰涛,等. 小檗碱对脂肪胰岛素抵抗细胞

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

PPARγ及脂肪分泌因子表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11): 1983 - 9.

[1] Tu J, Luo X X, Li B T, et al. Effects of berberine on mRNA expression levels of PPARγ and adipocytokines in insulin-resistant adipocytes[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2016, **41**(11): 1983 - 9.

[2] 刘庆丰, 刘 毅, 焦 正, 等. 三黄汤对3T3-L1脂肪细胞糖脂代谢的影响[J]. 中国药理学通报, 2016, **32**(6): 868 - 73.

[2] Liu Q F, Liu Y, Jiao Z, et al. Effect of Sanhuang decoction on glucose and lipid metabolism in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2016, **32**(6): 868 - 73.

[3] Rayyan S, Fossen T, Andersen ØM. Flavone C-glycosides from seeds of fenugreek, Trigonella foenum-graecum L[J]. *J Agr Food Chem*, 2010, **58**(12): 7211 - 7.

[4] Ying L K, Ling A P K, Yian K R, et al. A review on medicinal poperties of orientin[J]. *Adv Pharmacol Sci*, 2016, **2016**(4): 1 - 9.

[5] Yadav U C, Baquer N Z. Pharmacological effects of Trigonella foenum-graecum L. in health and disease[J]. *Pharm Biol*, 2014, **52**(2): 243.

[6] Kim J, Lee I, Seo J, et al. Vitexin, orientin and other flavonoids from Spirodela polyrhiza inhibit adipogenesis in 3T3-L1 cells[J]. *Phytother Res Ptr*, 2010, **24**(10): 1543 - 8.

[7] 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 - 6.

[7] Zhang R X, Jia Z P, Li M X, et al. The establishment of insulin resistant model *in vitro* and preliminary application for screening drugs[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2008, **24**(7): 971 - 6.

[8] Manaharan T, Ming C H, Palanisamy U D. Syzygium aqueum leaf extract and its bioactive compounds enhances pre-adipocyte differentiation and 2-NBDG uptake in 3T3-L1 cells[J]. *Food Chem*, 2013, **136**(2): 354 - 63.

[9] Sakoda H, Ogihara T, Anai M, et al. Dexamethasone-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is due to inhibition of glucose transport rather than insulin signal transduction[J]. *Diabetes*, 2000, **49**(10): 1700 - 8.

[10] Peng I C, Chen Z, Sun W, et al. Glucagon regulates ACC activity in adipocytes through the CAMKKβ/AMPK pathway[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, **302**(12): 1560 - 8.

[11] 秦 佑, 杨瑞仪, 陈梅果, 等. 树豆酮酸A抑制3T3-L1细胞脂肪合成与分解的作用研究[J]. 中国药理学通报, 2016, **32**(2): 189 - 93.

[11] Qin Y, Yang R Y, Chen M G, et al. Inhibitory effect of cajanonic acid A on lipogenesis and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2016, **32**(2): 189 - 93.

[12] 洪海棉, 谢秀利, 洪桂祝, 等. 大黄素激活AMPK、PPARγ对3T3-L1脂肪细胞葡萄糖摄取的影响[J]. 中国药理学通报, 2015, **31**(11): 1569 - 75.

[12] Hong H M, Xie X L, Hong G Z, et al. Activation of AMPK and PPARγ by emodin influences glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2015, **31**(11): 1569 - 75.

Effects of orientin on insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and its mechanism

HE Yan-feng[1], LI Gang[2], GAI Xiang-yun[1], LIN Peng-cheng[1], WANG Hong-lun[2]

(1. *College Of Pharmacy, Qinghai Nationalities University, Xining* 810007, *China*; 2. *Key Lab of Tibetan Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining* 810001, *China*)

Abstract: Aim To investigate the effect of orientin on proliferation and differentiation of 3T3-L1 pre-adipocytes and on insulin resistance (IR) in 3T3-L1 adipocytes and the possible mechanisms. **Methods** MTT assay and oil red O staining were applied to investigate the proliferation and the differentiation of 3T3-L1 pre-adipocytes, respectively. The intracellular triglyceride (TG) contents were detected by enzymatic analysis. IR model was induced with dexamethasone. A fluorescent glucose analogue, 2-NBDG, was used to measure the rate of glucose uptake. Western blot was used to detect the protein level of GLUT4 and phosphorylation of AMPK and ACC. The GLUT4 translocation was measured by fluorescent-immunohistochemistry. **Results** Orientin decreased the formation of lipid droplets and intracellular TG contents ($P < 0.01$) in a concentration-dependent manner ($P < 0.05$), but it had no obvious effects on the cell vitality. Under the IR state, orientin significantly increased 3T3-L1 adipocytes glucose uptake ($P < 0.05$). Meanwhile, orientin up-regulated the protein expression of p-AMPK, p-ACC, and enhanced GLUT4 translocation and its expression. **Conclusion** Orientin can effectively inhibit the differentiation of 3T3-L1 pre-adipocytes and increase insulin sensitivity due to the activation of AMPK/GLUT4 signal pathway.

Key words: orientin; 3T3-L1 adipocytes; differentiation; insulin resistance; p-ACC; p-AMPK; GLUT4

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net