

• 研究论文摘要 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-07-0586-01

## NADPH 氧化酶 3 在胰岛素抵抗中的作用机制

李兰芳, 黄秀清, 原慧萍, 满永, 王抒, 黎健

(卫生部北京老年医学研究所 卫生部老年医学重点实验室, 北京市 100730)

[关键词] NADPH 氧化酶 3 胰岛素抵抗; 活性氧

**目的** 氧化应激与胰岛素抵抗及糖尿病的发生有着密切的关系。本文主要观察胰岛素抵抗状态下氧化应激水平的变化, 并探讨其变化的机制。**方法** 使用 HEPG2 细胞, 用肿瘤坏死因子  $\alpha$  ( $4 \mu\text{g/L}$ ) 和高浓度胰岛素 ( $5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ ) 分别刺激 HEPG2 24 h 和 4 天, 建立胰岛素抵抗细胞模型。氧化酶法测培养细胞培养基中葡萄糖浓度; 蒽酮法测细胞内糖原合成; 逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测 NADPH 氧化酶 (NOX) 的表达谱, 免疫荧光法观察 p47 的移位; 以 DCFH-DA 探针标记, 流式细胞仪检测细胞内活性氧的水平。**结果** 肿瘤坏死因子  $\alpha$  和高浓度胰岛素刺激 HEPG2 后, 导致葡萄糖摄取障碍, 培养基上清中葡萄糖浓度显著升高, 细胞内糖原合成显著降低。RT-PCR 结果显示, HEPG2 细胞中主要表达 NOX3 及亚单位 p22、p47、p67、rac1 和 rac2。在胰岛素抵抗状态下, 细胞内活性氧的水平较正常组显著升高。应用活性氧 (ROS) 各种来源抑制剂筛选 HEPG2 细胞中活性氧生成的主要来源, 结果表明 NOX 抑制剂 DPI 预处理后, 活性氧水平显著降低, 而其他抑制剂如 Rotenone、Oxypurinol 和 L-NAME 预处理组的活性氧水平无显著变化。此外, 蛋白激酶 C (PKC) 激动剂 PMA 预处理 HEPG2 细胞后, 肿瘤坏死因子  $\alpha$  和高浓度胰岛素刺激所产生的活性氧水平进一步升高, 而 PKC 的抑制剂 Hypericin 能显著降低肿瘤坏死因子  $\alpha$  和高浓度胰岛素刺激组的活性氧水平。进一步研究发现, 肿瘤坏死因子  $\alpha$  和高浓度胰岛素刺激后, p47 从细胞浆向细胞膜移位。p47 的抑制剂 Apocynin 能显著抑制 p47 的膜转位。**结论** 胰岛素抵抗状态下, HEPG2 活性氧水平显著升高, 升高的活性氧主要来源于 NOX3 而 NOX3 的激活机制涉及 PKC 途径和 p47 的膜转位。

[基金项目] 国家自然科学基金 (30440065、30572082)、国家“973”计划课题 (2006CB503910) 和北京市自然科学基金 (7052059)

(此文编辑 许雪梅)