

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2024.04.0338

论著

瑞帕利辛改善棕榈酸诱导的骨骼肌细胞胰岛素抵抗

盛菲,倪钰鸽,牛文彦

(天津医科大学基础医学院免疫学系,天津 300070)

摘要 目的:探讨瑞帕利辛(Reparixin)对棕榈酸(PA)诱导的 C2C12 成肌细胞胰岛素抵抗的影响。方法:CCK-8(cell counting Kit-8)法检测不同浓度的 PA 或 Reparixin 处理后 C2C12 成肌细胞活力;将 C2C12 成肌细胞分为牛血清白蛋白组(BSA 组)、PA 组、PA+Reparixin 组,免疫印迹检测 SOCS3 蛋白水平及胰岛素信号分子蛋白激酶 B(Akt)和 160 kD 的蛋白激酶 B 底物(AS160)磷酸化水平,qPCR 检测 SOCS3 mRNA 水平。将 C2C12-GLUT4myc 小鼠成肌细胞同上分组,ELISA 检测细胞 GLUT4myc 转位。结果:0、100、200、300 $\mu\text{mol/L}$ 的 PA 和 0、20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ 的 Reparixin 均不影响 C2C12 细胞活力。PA 降低胰岛素磷酸化 Akt 和 AS160 的作用(均 $P<0.0001$),Reparixin 逆转 PA 的影响($F=86.78, 264.6, P<0.001, P<0.0001$)。PA 降低胰岛素促进 GLUT4myc 转位的作用($P<0.001$),Reparixin 逆转 PA 的影响($F=41.4, P<0.01$)。PA 上调 SOCS3 mRNA($P<0.001$)和蛋白水平($P<0.05$),Reparixin 逆转 PA 对 SOCS3 的影响($F=51.64, 7.97, P<0.001, P<0.05$)。结论:Reparixin 可能通过下调 SOCS3 基因和蛋白表达,缓解棕榈酸诱导的小鼠 C2C12 成肌细胞胰岛素抵抗。

关键词 瑞帕利辛;成肌细胞;胰岛素抵抗;细胞因子信号转导抑制因子 3;糖尿病

中图分类号 R392.1

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)04-0338-05

Reparixin improves palmitic acid-induced insulin resistance in skeletal muscle cells

SHENG Fei, NI Yuge, NIU Wenyan

(Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of Reparixin on palmitic acid (PA)-induced insulin resistance in C2C12 myoblasts.

Methods: The cell counting Kit-8(CCK-8) was used to detect the viability of C2C12 myoblasts treated with different concentrations of PA and Reparixin. C2C12 myoblasts were divided into bovine serum albumin group(BSA group), PA group and PA+Reparixin group, respectively. The expressions of suppressor of cytokine signaling 3(SOCS3) and the phosphorylation of insulin signaling molecules protein kinase B(Akt), protein kinase B substrate of 160 kD(AS160) were detected by Western blotting. The mRNA level of SOCS3 was detected by qPCR. C2C12-GLUT4myc myoblasts were grouped as above. The GLUT4myc translocation was detected by ELISA.

Results: CCK-8 results showed that 0, 100, 200, 300 $\mu\text{mol/L}$ PA and 0, 20, 30, 40 $\mu\text{mol/L}$ Reparixin did not affect C2C12 cell viability. PA reduced insulin-stimulated Akt and AS160 phosphorylation(both $P<0.0001$), which were reversed by Reparixin($F=86.78, 264.6, P<0.001, P<0.0001$). PA reduced GLUT4myc translocation($P<0.001$) which was reversed by Reparixin($F=41.4, P<0.01$). PA increased the levels of SOCS3 mRNA($P<0.001$) and SOCS3 protein($P<0.05$), which were reversed by Reparixin($F=51.64, 7.97, P<0.001, P<0.05$). **Conclusion:** Reparixin may alleviate PA-induced insulin resistance in C2C12 myoblasts by down-regulating SOCS3 expression.

Key words Reparixin; myoblasts; insulin resistance; SOCS3; diabetes mellitus

2 型糖尿病是以高血糖为主要特点的代谢性疾病,其重要特征是胰岛素抵抗^[1],表现为胰岛素在其靶组织的作用减弱。骨骼肌是胰岛素最大的靶组织,餐后升高的葡萄糖 80%左右由胰岛素刺激骨骼肌摄取^[2]。胰岛素与骨骼肌细胞膜上的胰岛素受体结合,磷酸化胰岛素受体底物(IRS)、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)和 160 kD 的蛋白激酶 B 底物(AS160),进而促进葡萄糖转运蛋白 4(GLUT4)从胞质转位到细胞膜上,转运葡萄糖进入

细胞,达到降低血糖的作用^[3]。

细胞因子信号转导抑制因子 3(SOCS3)是细胞因子信号转导抑制蛋白家族成员,负责调节细胞因子信号转导,SOCS3 干扰胰岛素信号分子的正常功能,使胰岛素信号转导减弱,导致胰岛素抵抗^[4]。研究报道,肝脏中过度表达 SOCS3 导致胰岛素抵抗,抑制糖尿病小鼠 SOCS3 的表达可改善胰岛素抵抗^[5]。

Reparixin 是白细胞介素 8 受体(CXCR1/2)的抑制剂^[6]。本研究旨在探讨 Reparixin 对棕榈酸诱导的 C2C12 小鼠成肌细胞胰岛素抵抗状态的影响及其潜在的分子机制。通过分析 Reparixin 如何影响胰岛

基金项目 国家自然科学基金面上项目(82270856)

作者简介 盛菲(1998-),女,硕士在读,研究方向:免疫学;通信作者:牛文彦, E-mail:wniu@tmu.edu.cn。

素信号通路,尤其是在调节 SOCS3 表达方面,为开发新的糖尿病治疗策略提供科学依据。本研究不仅有助于深化对胰岛素抵抗和 2 型糖尿病发病机制的理解,而且为探索新的治疗靶点提供了重要信息。

1 材料与方法

1.1 实验材料 小鼠 C2C12 成肌细胞株(美国 ATCC 公司),过表达 GLUT4^{myc} 的 C2C12 小鼠成肌细胞株(C2C12-GLUT4^{myc},与加拿大 Amira Klip 教授实验室合作建立),当 GLUT4^{myc} 从胞质转位到细胞膜上转运葡萄糖进入细胞时,其 ^{myc} 表位暴露于胞外,可以用 ELISA 法简便的检测 GLUT4^{myc} 转位(相当于检测葡萄糖摄取),避免了使用放射性同位素方法检测葡萄糖摄取。牛血清白蛋白(中国鼎国生物技术公司),DMEM 和 opti-MEM 培养基(美国 Gibco 公司),胎牛血清(以色列 Bioind 公司),瑞帕利辛(美国 MCE 公司),棕榈酸(美国 Sigma 公司),CCK-8 试剂盒(爱必信),抗 ^{myc} 单克隆抗体(美国 Santa Cruz Biotechnology 公司),Trizol(美国 Ambion 公司),逆转录试剂盒和 qPCR Mix(北京 TransGen Biotech 公司),磷酸化 Akt 抗体、磷酸化 AS160 抗体和 SOCS3 抗体(美国 CST 公司), β -actin 抗体(中国 Abclonal 公司),耦联 HRP 的山羊抗鼠抗体和耦联 HRP 的山羊抗兔抗体(美国 Jackson Immuno Research 公司),多聚甲醛(Biosharp 生物科技公司),增强化学发光底物检测试剂盒(美国 Millipore 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 分别将冻存的 C2C12 成肌细胞和 C2C12-GLUT4^{myc} 细胞由液氮中取出,于 37℃ 水浴中迅速融化,用含 10% FBS 的 DMEM 在 37℃、5%CO₂ 培养箱中培养,显微镜下观察细胞形态和生长密度,当细胞密度达到 80%~90%时,即可传代接板。

1.2.2 CCK-8 实验 将 C2C12 成肌细胞以每孔 5×10^3 个细胞的密度接种于 96 孔板中,细胞培养箱孵育 24 h,然后分别加入 0、100、200、300 $\mu\text{mol/L}$ PA 或 0、20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ Reparixin 孵育 24 h,检测对 C2C12 成肌细胞活力影响,每孔避光加入 10 μL CCK-8 试剂,细胞培养箱中孵育 1 h,450 nm 波长酶标仪检测吸光度。

1.2.3 免疫印迹 C2C12 成肌细胞分为 BSA 组、PA 组和 PA+Reparixin 组,分别用 BSA、300 $\mu\text{mol/L}$ PA、300 $\mu\text{mol/L}$ PA+40 $\mu\text{mol/L}$ Reparixin 孵育 24 h,加或不加 100 nmol/L 胰岛素刺激 10 min。提取各组细胞的总蛋白,并通过 BCA 蛋白测定法确定蛋白浓

度。配制含有等量蛋白的样品,加入缓冲液(含有 SDS),煮沸 10 min 使蛋白质变性。准备 10% SDS-PAGE 凝胶,并将样品及蛋白 marker 加到凝胶孔中。首先以 80 V 电压电泳至样品和 marker 开始分离形成清晰线条,调整电压至 120 V,继续电泳直到样品至凝胶最底端。电泳后,使用湿转法将蛋白从凝胶转移到 PVDF 膜上。在 110 V 电压下进行转移 2 h。电转后,用 3%的 BSA 溶液在室温下封闭 PVDF 膜 2 h。封闭结束后将 PVDF 膜按照蛋白分子量大小将目的条带切下,用含有一抗的孵育液(SOCS3 的稀释比例为 1:500,Akt、AS160 为 1:1000, β -actin 为 1:5000)覆盖膜,于 4℃ 摇床上过夜孵育。随后,使用 TBST 清洗膜 4 次,每次 10 min。加入对应的二抗溶液(1:5000)室温摇床孵育 2 h。再次用 TBST 清洗膜 4 次,每次 10 min。使用显影仪,预冷 30 min 后,将显影液滴在 PVDF 膜上曝光,Image J 软件分析条带。

1.2.4 ELISA 当 GLUT4^{myc} 转运至细胞膜上后,其 ^{myc} 表位暴露于细胞外,可以用 ELISA 方便的检测,避免使用同位素等复杂方法。将 C2C12-GLUT4^{myc} 细胞分为 BSA 组、PA 组和 PA+Reparixin 组,分别用 BSA、300 $\mu\text{mol/L}$ PA、300 $\mu\text{mol/L}$ PA+40 $\mu\text{mol/L}$ Reparixin 孵育 24 h,加或不加胰岛素刺激 30 min(背景孔不做任何处理),检测不同组细胞 GLUT4^{myc} 转位情况。加预冷的 PBS⁺(500 mL PBS+1 mL 1 mol/L MgCl₂+1 mL 1 mol/L CaCl₂)洗两次,加入 4%PFA(多聚甲醛)置于冰上 10 min,室温 10 min, PBS⁺洗两次,加入 0.1 mol/L 甘氨酸室温 10 min, PBS⁺洗两次,加入 5%山羊血清(GS)室温 10 min 后弃去,加入抗 ^{myc} 抗体,室温摇床 1 h, PBS⁺洗 3 次,每次 5 min,加入耦联 HRP 的羊抗鼠二抗室温摇床 1 h, PBS⁺洗 3 次,每次 5 min,吸净 PBS⁺,加入邻苯二胺(OPD)避光反应 2 min,用 3 mol/L HCl 终止反应,避光静置 2 min,吸取 200 μL 上清,加到 96 孔板中,492 nm 波长酶标仪测吸光度。所得 OD 值减去背景孔(仅用耦联 HRP 羊抗鼠二抗孵育)的 OD 值,计算其余各组 OD 值相对于对照组(设为 1)的倍数,即为细胞膜 GLUT4^{myc} 水平相对于对照组的倍数。

1.2.5 RNA 提取和 qPCR 将 C2C12 成肌细胞分为 BSA 组、PA 组和 PA+Reparixin 组,分别用 BSA、300 $\mu\text{mol/L}$ PA、300 $\mu\text{mol/L}$ PA+40 $\mu\text{mol/L}$ Reparixin 孵育 24 h,然后收集各组细胞检测不同分组 RNA 表达情况。各孔加入 500 μL Trizol 裂解细胞,异丙醇沉淀法提取 RNA。分光光度计检测 RNA 浓度,根

据逆转录试剂盒操作步骤逆转录合成 cDNA,将 cDNA、上下游引物、2×TransStart Tip Green Qpcr Super-Mix 混合成 20 μL 的体系,使用 LightCycler96 运行程序。根据 qPCR 得出的荧光曲线的 Ct 值,以 β-actin 基因为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算结果。所用引物序列见表 1。

表 1 扩增反应所需引物序列
Tab.1 Primer sequences for amplification reaction

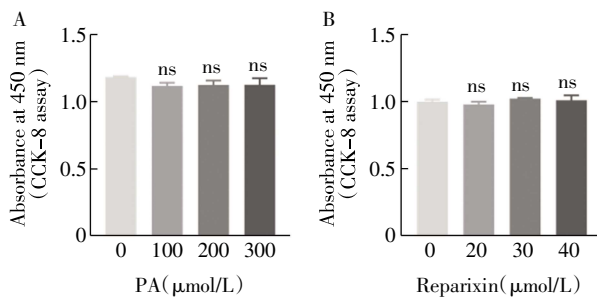
基因名称	引物序列(5'→3')	产物(bp)
SOCS3	上游 GAGCGGATTCTACTGGAGCG	159
	下游 TGGATGCGTAGGTTCTTGCTC	
β-actin	上游 AGCGAATCGAGGCCCAGA	192
	下游 CCTGCTTGCTGATCCACATC	

注:SOCS3:细胞因子信号转导抑制因子 3;β-actin:内参基因

1.3 统计学处理 使用 GraphPad Prism8 软件进行统计学分析,实验数据均重复 3 次及以上。符合正态分布的计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PA 和 Reparixin 对 C2C12 成肌细胞活力的影响 PA 孵育后 C2C12 成肌细胞的活力结果如图 1A。0、100、200、300 μmol/L 的 PA 均不影响 C2C12 成肌细胞活力($F=2.717, P>0.05$),选用 300 μmol/L PA 作为后续实验浓度。Reparixin 孵育后 C2C12 成肌细胞的活力结果如图 1B。0、20、30、40 μmol/L 均不影响 C2C12 成肌细胞活力($F=2.018, P>0.05$),选用 40 μmol/L 作为后续实验浓度。



注:PA:棕榈酸;Reparixin:瑞帕利辛;ns:差异无统计学意义

图 1 PA 和 Reparixin 对 C2C12 成肌细胞活力的影响

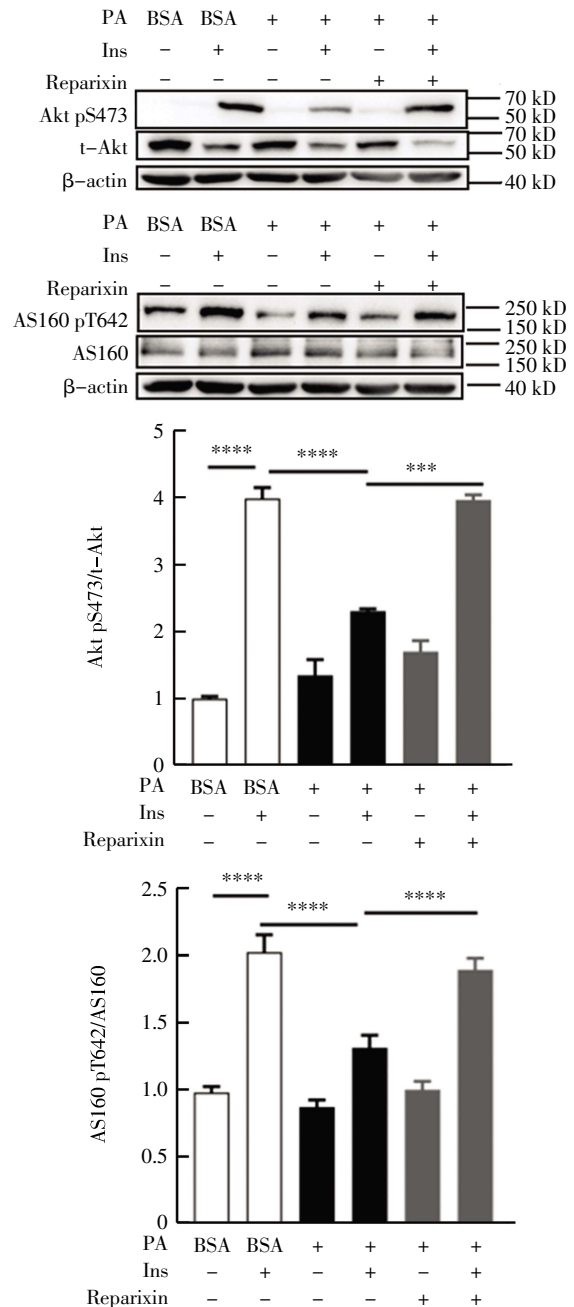
Fig.1 Effects of PA and Reparixin on C2C12 myoblasts viability

2.2 Reparixin 对 C2C12 成肌细胞 Akt 和 AS160 磷酸化的影响 结果如图 2 所示,PA 降低胰岛素磷酸化 Akt 和 AS160 的作用(均 $P < 0.0001$),Reparixin 逆转 PA 的影响($F=86.78, 264.6$, 均 $P < 0.0001$)。

2.3 Reparixin 对 C2C12-GLUT4myc 细胞 GLUT4myc 转位的影响结果 如图 3 所示,与 BSA 组相比,PA

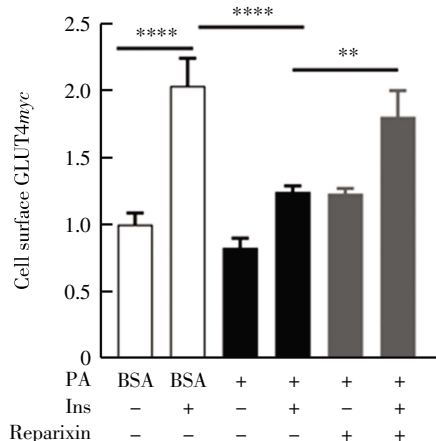
组胰岛素促进 GLUT4myc 转位的作用降低($P < 0.0001$),与 PA 组相比,PA+Reparixin 组胰岛素促进 GLUT4myc 转位的作用显著升高($F=41.4, P < 0.01$)。

2.4 Reparixin 对 C2C12 成肌细胞 SOCS3 表达的影响 结果如图 4,与 BSA 组相比,PA 组 SOCS3 mRNA 和蛋白水平均显著升高($P < 0.001, P < 0.05$)。与 PA 组相比,PA+Reparixin 组 SOCS3 mRNA 和蛋白水平均显著降低($F=51.64, 7.97, P < 0.001, P < 0.05$)。



注:BSA:牛血清白蛋白;PA:棕榈酸;Reparixin:瑞帕利辛;Akt:蛋白激酶 B;AS160:160 kD 的蛋白激酶 B 底物;β-actin:内参;Ins:胰岛素;*** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

图 2 免疫印迹检测 C2C12 成肌细胞 Akt 和 AS160 的磷酸化
Fig.2 The phosphorylation of Akt and AS160 in C2C12 myoblasts detected by Western blotting

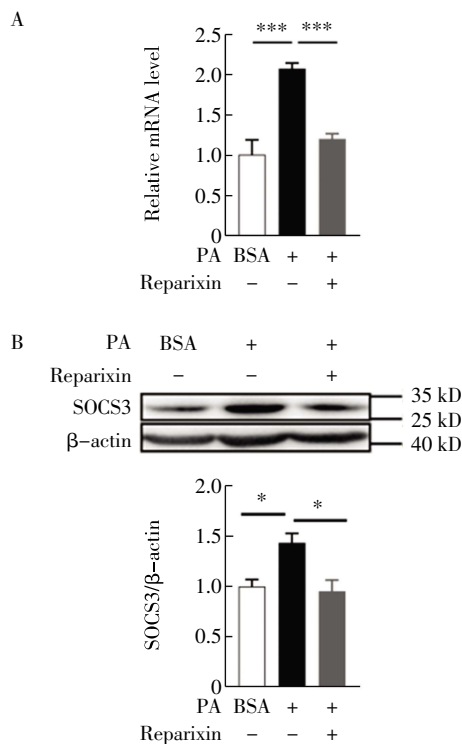


注: BSA: 牛血清白蛋白; PA: 棕榈酸; Reparixin: 瑞帕利辛;

GLUT4: 葡萄糖转运蛋白 4; Ins: 胰岛素; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.0001$

图3 ELISA 检测 C2C12-GLUT4myc 成肌细胞 GLUT4myc 转位

Fig.3 The translocation of GLUT4myc in C2C12-GLUT4myc myoblasts detected by ELISA



注: A: qPCR 检测 SOCS3 mRNA; B: 免疫印迹检测 SOCS3 蛋白水平; BSA: 牛血清白蛋白; PA: 棕榈酸; Reparixin: 瑞帕利辛; SOCS3: 细胞因子信号转导抑制因子 3; β-actin: 内参蛋白; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

图4 C2C12 成肌细胞 SOCS3 mRNA 和蛋白水平

Fig.4 The levels of SOCS3 mRNA and protein in C2C12 myoblasts

3 讨论

本研究中探讨了 Reparixin 对 PA 诱导的 C2C12 成肌细胞胰岛素抵抗的影响及其潜在机制。过量游离脂肪酸(FFA)造成的脂毒性是胰岛素抵抗的重要机制之一^[7], 其中又以饱和游离脂肪酸(SFAs)作用最为主要。研究表明, 当 SFAs 在细胞内水平超过其

线粒体氧化水平时, 会转化为有害的脂质, 如二酰甘油和神经酰胺。其中二酰甘油会激活蛋白激酶 C (PKC), PKC 通过抑制 IRS-1 的磷酸化损害胰岛素信号通路并且导致胰岛素抵抗, 进而发展为 2 型糖尿病^[8-9]。PA 作为一种饱和脂肪酸, 在过量时可诱导细胞内炎症和氧化应激, 进而导致胰岛素信号通路受损和胰岛素抵抗的发展^[10]。本研究用 PA 构建 C2C12 成肌细胞胰岛素抵抗模型^[11], 发现 PA 降低了胰岛素刺激的胰岛素信号通路蛋白的磷酸化, 并且抑制了葡萄糖的摄取, 表明 PA 成功诱导了 C2C12 成肌细胞胰岛素抵抗。而 Reparixin 逆转了 PA 的作用, 提示 Reparixin 具有改善 PA 诱导的 C2C12 成肌细胞胰岛素抵抗的作用, 这是首次发现 Reparixin 对骨骼肌细胞胰岛素抵抗的影响。

胰岛素信号通路是调节机体糖代谢的关键机制, 参与 2 型糖尿病和胰岛素抵抗的发生^[12]。胰岛素通过结合其受体(IR)启动一系列下游信号转导事件, 其中最为关键的是 PI3K 和 Akt 的激活^[13]。Akt 的激活进一步激活下游的 AS160, AS160 促进 GLUT4 转位至细胞膜, 从而增加细胞对葡萄糖的摄取能力, 维持血糖稳定^[14]。在胰岛素抵抗状态, 这一信号通路受到干扰, 尤其是 Akt 激活的减弱, 导致 GLUT4 转位和细胞对葡萄糖摄取的能力下降, 最终导致血糖水平升高^[15]。

GLUT4 具有胰岛素敏感性, 主要在骨骼肌和脂肪组织中表达, 对于维持全身葡萄糖稳态至关重要^[16]。在胰岛素作用下, GLUT4 从胞内储存小泡快速转位至细胞膜, 增加细胞表面 GLUT4 的数量, 从而促进葡萄糖的摄取^[17]。因此, 任何影响 Akt 激活或 GLUT4 转位的因素都可能导致胰岛素抵抗的发展。本实验室构建过表达 GLUT4myc 的 C2C12-GLUT4myc 细胞株, 检测 GLUT4myc 的转位, 从而反映细胞的葡萄糖摄取情况。本研究发现 Reparixin 通过促进 C2C12-GLUT4myc 细胞 GLUT4myc 转位, 恢复胰岛素信号通路的正常功能, 改善了胰岛素抵抗状态。这一发现为进一步探索 Reparixin 在治疗 2 型糖尿病中的潜力提供了基础。

笔者进一步探讨了 Reparixin 改善 C2C12 成肌细胞胰岛素抵抗的机制。SOCS3 是一个关键的细胞内蛋白, 其主要功能是通过抑制特定的细胞信号通路来调节细胞内信号转导^[18]。SOCS3 减弱 IRS 对胰岛素的响应, 削弱胰岛素信号转导, 抑制 IRS-1-PI3K-Akt 信号通路, 从而导致胰岛素抵抗, 抑制 SOCS3 有望成为治疗胰岛素抵抗以及 2 型糖尿病的新靶点^[4]。有报道称胰岛素抵抗的肥胖动物肝脏 SOCS3

表达水平显著升高,肝脏中过表达 SOCS3 诱导全身胰岛素抵抗^[19],抑制糖尿病小鼠肝脏 SOCS3 可使受损的胰岛素敏感性得到改善^[20],同时,抑制 SOCS3 显著可改善肝脂肪变性^[21]。以上研究表明 SOCS3 与胰岛素抵抗有关,并且抑制 SOCS3 的表达可以改善胰岛素抵抗。笔者的结果显示,PA 升高 C2C12 成肌细胞 SOCS3 的 mRNA 和蛋白表达水平,表明其可能通过上调 SOCS3 水平诱发胰岛素抵抗,而 Reparixin 部分逆转了 PA 的作用,并且部分逆转 PA 诱导的 C2C12 成肌细胞胰岛素抵抗以及葡萄糖摄取,Reparixin 可能通过抑制 SOCS3 基因表达,改善 PA 诱导的 C2C12 成肌细胞胰岛素抵抗。

综上所述,本研究发现 Reparixin 能够改善 PA 诱导的小鼠 C2C12 成肌细胞的胰岛素抵抗,并且 Reparixin 发挥作用的机制之一是抑制 SOCS3 基因的表达,证明 Reparixin 具有改善胰岛素抵抗的作用,并且 SOCS3 有可能成为治疗 2 型糖尿病的潜在靶点。

参考文献:

- [1] HU W, LI W, SUM W, et al. Hirsutine ameliorates hepatic and cardiac insulin resistance in high-fat diet-induced diabetic mice and *in vitro* models[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 177(5): 105917.
- [2] CALDERÓN-DUPONT D, TORRE-VILLALVAZO I, DÍAZ-VILLASEÑOR A. Is insulin resistance tissue-dependent and substrate-specific? The role of white adipose tissue and skeletal muscle[J]. *Biochimie*, 2023, 204(1): 48-68.
- [3] SANVEE G M, PANAJATOVIC M V, BOUITBIR J, et al. Mechanisms of insulin resistance by simvastatin in C2C12 myotubes and in mouse skeletal muscle[J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 164: 23-33.
- [4] SONG H, HUANG Q, ZHANG Y, et al. Wheat germ peptide improves glucose metabolism and insulin resistance in HepG2 hepatocytes via regulating SOCS3/IRS1/Akt pathway[J]. *Nutr Res*, 2023, 120: 135-144.
- [5] UEKI K, KONDO T, KAHN C R, et al. Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS-1) and SOCS-3 cause insulin resistance through inhibition of tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins by discrete mechanisms[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(12): 5434-5446.
- [6] LEITNER J M, MAYR F B, FIRBAS C, et al. Reparixin, a specific interleukin-8 inhibitor, has no effects on inflammation during endotoxemia[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2007, 20(1): 25-36.
- [7] SHULMAN G I. Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(12): 1131.
- [8] CHABOWSKI A, ENDZIAN-PIOTROWSKA M, KONSTANTYNO-WICZ K, et al. Fatty acid transporters involved in the palmitate and oleate induced insulin resistance in primary rat hepatocytes[J]. *Acta Physiol*, 2013, 207(2): 346-357.
- [9] DAI H B, WANG H Y, WANG F Z, et al. Adrenomedullin ameliorates palmitic acid-induced insulin resistance through PI3K/Akt pathway in adipocytes[J]. *Acta Diabetologica*, 2022, 59(5): 661-673.
- [10] KORBECKI J, BAJDAK-RUSINEK K. The effect of palmitic acid on inflammatory response in macrophages: an overview of molecular mechanisms[J]. *Inflamm Res*, 2019, 68(11): 915-932.
- [11] DU H, DUAN S, LEI R, et al. Astragalin inhibits insulin resistance and oxidative Stress in palmitic acid-induced HepG2 cells[J]. *Curr Top Nutraceut R*, 2022, 20(4): 635-640.
- [12] SAMUEL V T, SHULMAN G I. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(1): 12-22.
- [13] BOUCHER J, KLEINRIDERS A, KAHN C R. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 6(1): a009191.
- [14] WATSON R T, KANZAKI M, PESSIN J E. Regulated membrane trafficking of the insulin-responsive glucose transporter 4 in adipocytes[J]. *Endocr Rev*, 2004, 25(2): 177-204.
- [15] RICHTER E A, HARGREAVES M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake[J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(3): 993-1017.
- [16] KARNIELI E, ARMONI M. Transcriptional regulation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 gene: from physiology to pathology[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 295(1): E38-E45.
- [17] LETO D, SALTIEL A R. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(6): 383-396.
- [18] WHITE C A, NICOLA N A. SOCS3: an essential physiological inhibitor of signaling by interleukin-6 and G-CSF family cytokines[J]. *JAKSTAT*, 2013, 2(4): e25045.
- [19] UEKI K, KONDO T, TSENG YH, et al. Central role of suppressors of cytokine signaling proteins in hepatic steatosis, insulin resistance, and the metabolic syndrome in the mouse[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(28): 10422-10427.
- [20] O'CONNOR J C, SHERRY C L, GUEST C B, et al. Type 2 diabetes impairs insulin receptor substrate-2-mediated phosphatidylinositol 3-kinase activity in primary macrophages to induce a state of cytokine resistance to IL-4 in association with overexpression of suppressor of cytokine signaling-3[J]. *J Immunol*, 2007, 178(11): 6886-6893.
- [21] WADA T, SUNAGA H, MIYATA K, et al. Aryl hydrocarbon receptor plays protective roles against high fat diet (HFD)-induced hepatic steatosis and the subsequent lipotoxicity via direct transcriptional regulation of socs3 gene expression[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(13): 7004-7016.

(2024-01-04 收稿)