

# 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞糖脂代谢及 PI3K/Akt/FOXO1 信号通路的影响

张凯茵<sup>1</sup>, 姚凤云<sup>1\*</sup>, 韩瑶瑶<sup>1</sup>, 姜勃琳<sup>2</sup>, 王琳<sup>2</sup>, 李雯<sup>3</sup>, 杨红芳<sup>3</sup>, 张桓源<sup>1</sup>, 崔言坤<sup>1,2\*</sup>  
(1. 江西中医药大学中医学院, 江西 南昌 330004; 2. 江西中医药大学方-证研究中心, 江西 南昌 330004; 3. 南昌市方-证对应免疫及代谢疾病防治重点实验室, 江西 南昌 330004)

**摘要:** **目的** 探讨不同剂量加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞分化及 PI3K/Akt/FOXO1 糖脂代谢通路的影响。**方法** CCK-8 法筛选加味温胆汤含药血清浓度。将从 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化成的 3T3-L1 脂肪细胞分为空白组、模型组、罗格列酮组 (10 mg/L) 和加味温胆汤低、中、高剂量组 (5%、10%、20%), 给予不同浓度血清干预 48 h 后收集样本。油红 O 染色检测脂质积累, 葡萄糖氧化酶 (GOD) 法检测细胞葡萄糖消耗量, RT-qPCR 法检测细胞 *IRS-1*、*PI3K*、*Akt*、*GLUT4*、*IL-6*、*TNF-α*、*IL-1β* mRNA 表达, Western blot 法检测细胞 INSR、IRS-1、PI3K-p85、Akt、FOXO1、GLUT4 蛋白表达。**结果** 不同浓度加味温胆汤含药血清干预 3T3-L1 前脂肪细胞 24、48、72 h 后, 对细胞活性无显著影响 ( $P>0.05$ )。3T3-L1 前脂肪细胞可在 14 d 内诱导为成熟脂肪细胞。与模型组比较, 加味温胆汤各剂量组脂肪细胞脂质积累减少, *IRS-1*、*IL-6*、*TNF-α*、*IL-1β* mRNA 表达降低 ( $P<0.01$ ); 加味温胆汤低剂量组 *PI3K*、*GLUT4* mRNA 表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), INSR、IRS-1、PI3K-p85、Akt、GLUT4 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); 加味温胆汤中剂量组 *GLUT4* mRNA 表达升高 ( $P<0.01$ ), INSR、FOXO1 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ); 加味温胆汤高剂量组干预 24 h 后, 脂肪细胞葡萄糖消耗量增加 ( $P<0.01$ ), INSR、Akt、FOXO1 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。**结论** 加味温胆汤可减少脂肪细胞脂质积累, 激活 PI3K/Akt/FOXO1 信号通路, 调节糖脂代谢, 促进脂肪细胞代谢稳态。  
**关键词:** 加味温胆汤; 3T3-L1 脂肪细胞; 肥胖; 糖脂代谢; PI3K/Akt/FOXO1 信号通路  
**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2025)10-3242-07  
**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.10.010

## Effects of Supplemented Wendan Decoction on glycolipid metabolism and PI3K/Akt/FOXO1 signalling pathway in 3T3-L1 adipocytes

ZHANG Kai-yin<sup>1</sup>, YAO Feng-yun<sup>1\*</sup>, HAN Yao-yao<sup>1</sup>, JIANG Jie-lin<sup>2</sup>, WANG Lin<sup>2</sup>, LI Wen<sup>3</sup>, YANG Hong-fang<sup>3</sup>, ZHANG Huan-yuan<sup>1</sup>, CUI Yan-kun<sup>1,2\*</sup>  
(1. College of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Formula-Pattern Research Center, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 3. Nanchang Municipal Key Laboratory for Formula-Pattern Correspondence for Immunological and Metabolic Diseases, Nanchang 330004, China)

**ABSTRACT:** **AIM** To investigate the impact of varying dosages of Supplemented Wendan Decoction on the PI3K/Akt/FOXO1 glycolipid metabolic pathway in 3T3-L1 adipocytes. **METHODS** The CCK-8 assay was used to determine the concentration of Supplemented Wendan Decoction-medicated serum. The mature adipocytes differentiated from 3T3-L1 preadipocytes after induction were further divided into the blank control group, the model group, the rosiglitazone group (10 mg/L), and the Supplemented Wendan Decoction groups (5%, 10%,

**收稿日期:** 2024-11-19  
**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (82360897); 江西省自然科学基金项目 (20212BAB216007); 江西省创新创业训练计划项目 (S202410412070); 江西省中医药管理局科技计划项目 (2022A328)  
**作者简介:** 张凯茵 (1998—), 女, 硕士生, 从事方剂作用机理及其药效学研究。Tel: 15013184654, E-mail: 597031542@qq.com  
\* **通信作者:** 姚凤云 (1975—), 女, 博士, 教授, 从事中药方剂配伍规律研究。Tel: 13330100289, E-mail: hrbyaoyao2000@163.com  
崔言坤 (1991—), 女, 博士, 副教授, 从事方剂作用机理及其药效物质基础研究。Tel: 13045116050, E-mail: 20201020@jxutcm.edu.cn

and 20%) , followed by the sample collections after 48 hours of treatment. Oil red O staining quantified lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes; extracellular glucose levels were measured using glucose oxidase ( GOD ) assay; RT-qPCR analyzed mRNA expressions of *IRS-1*, *PI3K*, *Akt*, *GLUT4*, *IL-6*, *TNF- $\alpha$*  and *IL-1 $\beta$* ; Western blot assessed protein expressions of INSR, IRS-1, PI3K-p85, Akt, FOXO1 and GLUT4. **RESULTS** No significant changes in cell viability ( $P>0.05$ ) were observed in 3T3-L1 preadipocytes exposed to serum containing supplemented Wendan Decoction at different concentrations for 24, 48, or 72 hours. The 3T3-L1 preadipocytes held the capacity to differentiate into mature adipocytes within a 14-day induction period. Compared to the model group, all supplemented Wendan Decoction groups exhibited reduced lipid accumulation in adipocytes and downregulated mRNA expression of *IRS-1*, *IL-6*, *TNF- $\alpha$*  and *IL-1 $\beta$*  ( $P<0.01$ ) ; the low-dose group demonstrated increased mRNA expressions of *PI3K* and *GLUT4* ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ) , alongside elevated protein expressions of INSR, IRS-1, PI3K-p85, Akt and GLUT4 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ) ; the medium-dose group showed enhanced *GLUT4* mRNA expression, and upregulated protein expressions of INSR and FOXO1 ( $P<0.01$ ) . After 24 hours intervention, the high-dose Supplemented Wendan Decoction group exhibited increased glucose consumption in adipocytes ( $P<0.01$ ) , and elevated protein expression of INSR, Akt and FOXO1 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ) . **CONCLUSION** Supplemented Wendan Decoction reduces lipid accumulation in adipocytes, regulates glucose and lipid metabolism, and promotes metabolic homeostasis through PI3K/Akt/FOXO1 signaling pathway. **KEY WORDS:** Supplemented Wendan Decoction; 3T3-L1 adipocytes; obesity; glycolipid metabolism; PI3K/Akt/FOXO1 signaling pathway

随着人们生活水平的提高和生活方式的改变,肥胖发病率也在逐年攀升,预计到 2030 年全球范围内将高达 60%<sup>[1]</sup>。肥胖作为一种代谢性疾病,可加重代谢紊乱,在其微环境下人体脂肪组织代谢稳态失衡,进而损害胰岛素信号传导通路,影响胰岛素敏感性,这与糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 发生发展密不可分,特别是 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM)<sup>[2-3]</sup>。T2DM 占 DM 总发病率的 90%<sup>[4]</sup>,其中 80% 的患者伴有肥胖或超重,目前临床尚无根治药物,患者需终身服药,而且不良反应较多<sup>[5]</sup>。

近年来,关于中药治疗肥胖的研究逐渐增多,疗效理想<sup>[6]</sup>。加味温胆汤是国医大师段富津的经验方,根据肥胖“虚、痰、瘀”的病因病机,在《三因极一病证方论》中温胆汤基础上加入黄芪、白芥子、丹参,共奏健脾益气、化痰逐瘀之功,具有抗营养性肥胖的作用<sup>[7-8]</sup>。本研究拟探讨加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞糖脂代谢的影响,以期为临床预防肥胖相关 T2DM 提供实验依据。

## 1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 (220±20) g,由江西中医药大学实验动物科技中心提供 [实验动物生产许可证号 SCXK (赣) 2023-0001],饲养于江西中医药大学动物房 [实验动物使用许可证号 SYXK (赣) 2022-0002]。本研究经江西中

医药大学实验动物伦理委员会审查批准 (伦理号 JZLLSC20240570)。

1.2 细胞株 小鼠胚胎成纤维细胞 3T3-L1 细胞株 (批号 CL-173,美国菌种保存中心)。

1.3 药物 法半夏、陈皮、丹参 (安徽盛林国药饮片有限公司,批号 cp-498-240101、cp-128-230401、cp-044-211201);竹茹 (安国市远光药业有限公司,批号 396220601);枳实 (广东元德中药饮片有限公司,批号 c-240008);黄芪 (邵阳神农中药科技发展有限公司,批号 240103);茯苓 (湖南神舟中药饮片有限公司,批号 220606);白芥子 (河北联康药业有限公司,批号 2304010153);炙甘草 (山东万福堂中药饮片有限公司,批号 240601);大枣 (四川秦巴本草药业有限公司,批号 240701)。

1.4 试剂 3T3-L1 细胞专用培养基、人胰岛素 (武汉普诺赛生命科技有限公司,货号 CM-0006、PB180432);胎牛血清 (广州互成技术有限公司,货号 FBS-SaHu-500)。地塞米松 (上海皓元生物医药科技有限公司,批号 HY-12318);罗格列酮 (美国 Sigma 公司,货号 R2408)。油红 O 染色液 (北京索莱宝科技有限公司,货号 G1260);CCK-8 试剂 (深圳百凯美生物技术有限公司,货号 BKM-CK);葡萄糖测定试剂盒 (上海荣盛生物药业股份有限公司,批号 361510);BCA 试剂盒 (南京建成

生物工程研究所有限公司, 批号 CW00145); GAPDH 抗体 (上海埃必威生物技术有限公司, 货号 AB0037); INSR、IRS-1、PI3K-p85、Akt、FOXO1 抗体 (美国 Cell Signaling Technology, 货号 3025S、2382S、4292S、9272S、2880S); GLUT4 抗体 (英国 Abcam 公司, 货号 AB216661)。

1.5 仪器 二氧化碳细胞培养箱 [ 艺斯高 (上海) 贸易有限公司, 型号 CLM-170B-8-CN]; 倒置显微镜 (德国 Leica 公司, 型号 DMi1); 多功能酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司, 型号 SpectraMax 190); 实时荧光定量 PCR 仪、凝胶成像分析系统 (美国 Bio-Rad 公司, 型号 CFX 96 Touch、ChemiDoc XRS+); 高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司, 型号 5430R)。

2 方法

2.1 加味温胆汤及其含药血清制备

2.1.1 原方 加味温胆汤由半夏 10 g、竹茹 10 g、陈皮 15 g、枳实 10 g、黄芪 15 g、茯苓 7.5 g、白芥子 10 g、丹参 10 g、炙甘草 5 g、生姜 5 g、大枣 3 g 组成, 将所有药材放入烧杯中, 加 10 倍量蒸馏水浸泡 30 min 后提取 2 次, 每次 50 min, 合并 2 次滤液, 浓缩至生药量 1 g/mL, 即得, 放入 4 ℃ 冰箱中保存。

2.1.2 含药血清 大鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为空白组和加味温胆汤组, 每组 20 只, 加味温胆汤组按 4.52 g/kg (相当于 70 kg 成人等效量) 每天灌胃给药 2 次, 空白组给予等体积蒸馏水, 连续 7 d。末次给药 1 h 后, 大鼠用戊巴比妥钠麻醉后腹主动脉取血, 分离血清, 同组大鼠血清混匀、灭活 (56 ℃, 30 min)、过滤除菌 (0.22 μm 多孔滤膜) 后分装于冻存管中, 即得, 放入 -80 ℃ 冰箱中保存。

2.2 CCK-8 法筛选加味温胆汤含药血清浓度 取对数生长期的 3T3-L1 前脂肪细胞, 制成悬液, 调整密度为 5×10<sup>3</sup>/mL, 接种于 96 孔板上, 置于培养箱中孵育 12 h。将细胞分为空白组和加味温胆汤组, 弃去旧培养液, 各组分别加入梯度 (5%、10%、20%) 含药血清, 每个梯度均设置同等浓度的空白血清作为对照, 每组设 3 个复孔, 分别培养 24、48、72 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 37 ℃ 孵育 1 h, 通过酶标仪测定 450 nm 波长处吸光度 (A)。细胞活性 = [ (A<sub>加味温胆汤组</sub> - A<sub>空白孔</sub>) / (A<sub>空白组</sub> - A<sub>空白孔</sub>) ] × 100%。

2.3 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化 将 3T3-L1 前

脂肪细胞置于含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基中, 置于 37 ℃、饱和湿度、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养, 常规换液传代后取对数生长期者, 按 1×10<sup>5</sup>/mL 密度接种于 6 孔板, 待其密度达 90% ~ 100% 后换液, 接触抑制 2 d, 加入分化液 I (在含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中添加 0.5 mmol/L IBMX、1.0 μmol/L DEX 和 10 μg/mL 胰岛素) 培养 2 d, 更换分化液 II (在含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中添加 10 μg/mL 胰岛素) 培养 2 d, 再用含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基培养, 每 2 d 换液 1 次, 直至 90% 以上细胞呈脂肪细胞表型为止, 采用油红 O 染色法鉴定, 用于后续实验。

2.4 分组 将 3T3-L1 脂肪细胞分为模型组 (20% 空白血清)、罗格列酮组 (20% 空白血清+10 mg/L 罗格列酮) 和加味温胆汤高、中、低剂量组 (20%、10%、5% 含药血清), 另以 3T3-L1 前脂肪细胞 (20% 空白血清) 为空白组。

2.5 指标检测

2.5.1 油红 O 染色检测细胞脂滴积累情况 待细胞诱导分化至第 8 天, 按 “2.4” 项下分组加入不同含药血清干预 48 h, 弃液, PBS 清洗 2 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 加入 60% 油红 O 染色液避光染色 20 min, PBS 清洗, 于显微镜下观察并拍照记录, 弃去液体, 加入异丙醇吹打细胞, 使得脂滴充分溶解, 混匀, 通过酶标仪测定 510 nm 波长处光密度 (OD) 值。

2.5.2 细胞上清液中葡萄糖含量测定 细胞按 “2.4” 项下分组后给药干预 24、48 h, 收取上清液, 采用葡萄糖测定试剂盒检测葡萄糖含量, 再检测培养基中原始葡萄糖浓度, 计算消耗量。

2.5.3 RT-qPCR 法检测细胞 *IRS-1*、*PI3K*、*Akt*、*GLUT4*、*IL-6*、*TNF-α*、*IL-1β* mRNA 表达 细胞按 “2.4” 项下分组后给药干预 48 h, 收集, 采用总 RNA 提取试剂提取 RNA, 测定其浓度及纯度, 逆转录为 cDNA, 按照 2×Bio HiFi PCR Mix 说明书进行扩增反应, 通过 NCBI Primer Blast 设计引物序列, 由深圳华大基因股份有限公司合成, 引物序列见表 1。以 *GAPDH* 为内参, 采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算各基因表达。

2.5.4 Western blot 法检测细胞 PI3K/Akt/FOXO1 通路相关蛋白表达 细胞按 “2.4” 项下分组后给药干预 48 h, 收集, 采用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白, 按照 BCA 试剂盒说明书测定其浓度, 计算

表 1 引物序列  
Tab.1 Primer sequences

| 基因           | 正向序列(5'→3')               | 反向序列(5'→3')               | 产物长度/bp |
|--------------|---------------------------|---------------------------|---------|
| <i>IRS-1</i> | GGAGTTGAGTTGGGCAGAATAG    | GCTTTGACGAGGACAACCTATC    | 126     |
| <i>PI3K</i>  | CATAACCTGCAAACACTGCCC     | ATCCTGCAAGGACATATTGTTGT   | 87      |
| <i>Akt</i>   | ATGAACGACGTAGCCATTGTG     | TTGTAGCCAATAAAGGTGCCAT    | 116     |
| <i>GLUT4</i> | CGAGCTGGACGACGGACACTC     | AGACATAGCTCATGGCTGGAACCCG | 115     |
| <i>IL-6</i>  | GAGGATACCACTCCCAACAGACC   | AAGTGCATCATCGTTGTTCATACA  | 141     |
| <i>TNF-α</i> | CATCTTCTCAAAATTCGAGTGACAA | TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC   | 175     |
| <i>IL-1β</i> | TGGGCTGGACTGTTTCTAATG     | GGTTTCTTGTGACCCTGAGC      | 134     |
| <i>GAPDH</i> | AGGAGCGAGACCCCACTAACA     | AGGGGGGCTAAGCAGTTGGT      | 247     |

上样量，加入适量蛋白上样缓冲液，煮沸变性，经 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、封闭、TBST 洗涤后加一抗，4 ℃ 孵育过夜，再洗涤后加二抗，室温孵育 1 h，最后 TBST 清洗 3 次，加入 ECL 化学发光显影液，置于凝胶成像系统中曝光显影，采用 Image Lab 软件分析条带灰度值。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 25.0、GraphPad Prism 9.0 软件进行处理，数据以 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示，组间比较采用单因素方差分析，符合正态分布者组间两两比较采用 LSD 检验和 Tukey 检验，不符合正态分布者组间两两比较采用非参数检验。 $P<0.05$

表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 加味温胆汤对 3T3-L1 前脂肪细胞活性的影响 如图 1 所示，与空白组比较，不同浓度（5%、10%、20%）含药血清分别干预 3T3-L1 前脂肪细胞 24、48、72 h 后，对细胞活性均无明显影响 ( $P>0.05$ )，其中 48 h 时各组细胞存活率均在 80% 以上。因此，后续选择药物干预时间为 48 h，其中 5%、10%、20% 含药血清浓度分别作为加味温胆汤低、中、高剂量。

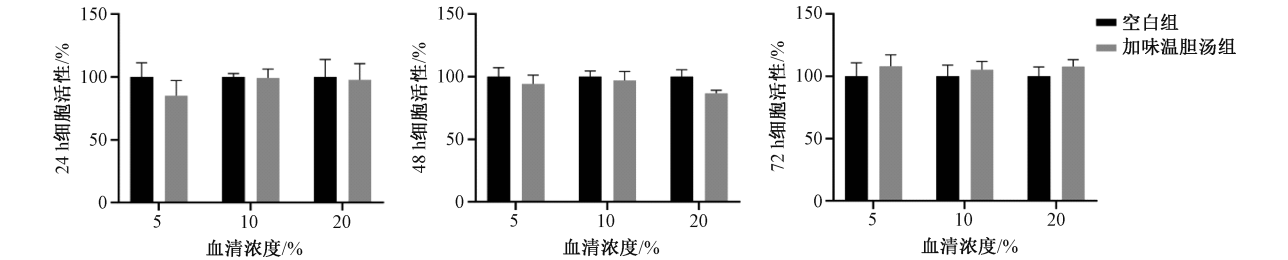


图 1 加味温胆汤含药血清对 3T3-L1 前脂肪细胞活性的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )  
Fig.1 Effect of serum containing Supplemented Wendan Decoction on the viability of 3T3-L1 preadipocytes ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

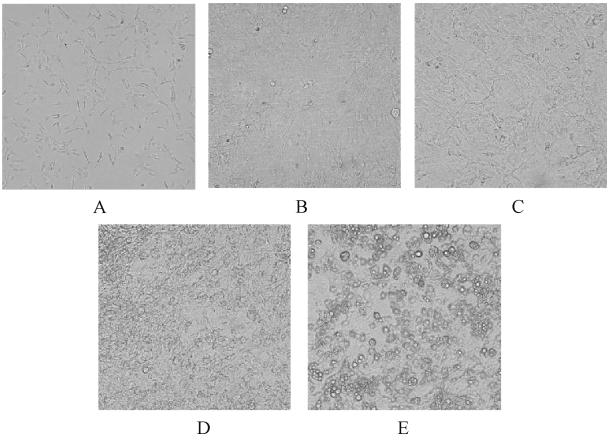
3.2 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化脂肪细胞 未分化的 3T3-L1 前脂肪细胞呈不规则梭形，内无脂滴；加入分化液 I 2 d 后，细胞逐渐变大变圆；加入分化液 II 2 d 后，细胞开始出现小脂滴；诱导分化到第 8 天，小脂滴增多并逐渐汇聚，第 14 天时 90% 以上 3T3-L1 脂肪细胞呈“戒环状”，标志成熟脂肪细胞诱导分化完成，见图 2。

3.3 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞脂滴积累的影响 空白组无脂滴分布；模型组脂滴数量较多，并以大脂滴为主；各给药组以小脂滴聚集为主，见图 3。与空白组比较，模型组脂质 OD 值升高 ( $P<0.01$ )，表明脂滴聚集增加；与模型组比较，加味温胆汤各剂量组细胞脂滴聚集减少，脂质 OD 值降低 ( $P<0.01$ )，而罗格列酮组脂质 OD 值略下降，但无显著差异 ( $P>0.05$ )，见图 4。

3.4 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖摄取的影响 给药干预 24 h 后，与模型组比较，加味温胆汤高剂量组、罗格列酮组脂肪细胞葡萄糖消耗量增加 ( $P<0.01$ )，加味温胆汤低、中剂量组脂肪细胞葡萄糖消耗量无明显变化 ( $P>0.05$ )。给药干预 48 h 后，与模型组比较，罗格列酮组脂肪细胞葡萄糖消耗量增加 ( $P<0.01$ )，加味温胆汤各剂量组脂肪细胞葡萄糖消耗量无明显变化 ( $P>0.05$ )。见表 2。

3.5 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞 *IRS-1*、*PI3K*、*Akt*、*GLUT4*、*IL-6*、*TNF-α*、*IL-1β* mRNA 表达的影响 与空白组比较，模型组细胞 *IRS-1*、*IL-6*、*TNF-α*、*IL-1β* mRNA 表达升高 ( $P<0.01$ )，*PI3K*、*Akt*、*GLUT4* mRNA 表达降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )；与模型组比较，罗格列酮组、加味温胆汤各剂量组

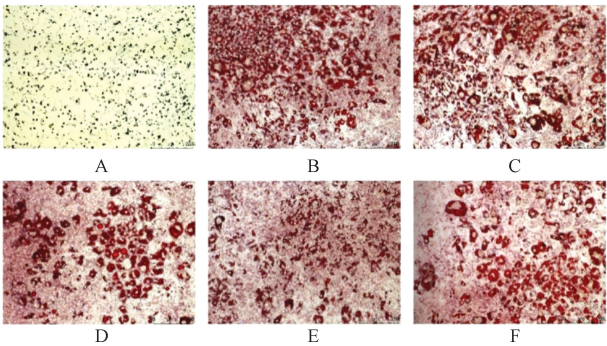




注：A 为未分化前的细胞，B 为接触抑制 2 d 后的细胞，C 为加入分化液 I 2 d 后的细胞，D 为加入分化液 II 2 d 后的细胞，E 为诱导分化完成的细胞。

图 2 3T3-L1 细胞诱导分化过程 (×100)

Fig. 2 Induction process of 3T3-L1 cell differentiation (×100)



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为罗格列酮组，D~F 分别为加味温胆汤低、中、高剂量组。

图 3 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞油红 O 染色的影响 (×100)

Fig. 3 Effect of Supplemented Wendan Decoction on 3T3-L1 adipocytes by oil red O staining (×100)

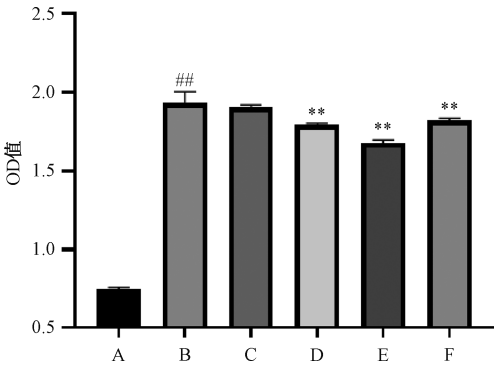
表 3 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞 *IRS-1*、*PI3K*、*Akt*、*GLUT4*、*IL-6*、*TNF-α*、*IL-1β* mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Tab. 3 Effects of Supplemented Wendan Decoction on the mRNA expressions of *IRS-1*, *PI3K*, *Akt*, *GLUT4*, *IL-6*, *TNF-α* and *IL-1β* in 3T3-L1 adipocytes ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

| 组别        | <i>IRS-1</i>            | <i>PI3K</i>             | <i>Akt</i>               | <i>GLUT4</i>            | <i>IL-6</i>             | <i>TNF-α</i>            | <i>IL-1β</i>            |
|-----------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 空白组       | 1.02±0.20               | 1.00±0.10               | 1.000±0.080              | 1.01±0.13               | 1.00±0.05               | 1.03±0.23               | 1.00±0.09               |
| 模型组       | 3.53±0.31 <sup>##</sup> | 0.22±0.08 <sup>##</sup> | 0.012±0.002 <sup>#</sup> | 0.19±0.01 <sup>##</sup> | 4.62±0.42 <sup>##</sup> | 5.97±0.67 <sup>##</sup> | 4.70±0.21 <sup>##</sup> |
| 罗格列酮组     | 1.43±0.08 <sup>**</sup> | 0.23±0.03               | 0.065±0.004              | 0.41±0.01 <sup>*</sup>  | 2.79±0.24 <sup>**</sup> | 3.48±0.09 <sup>**</sup> | 3.16±0.20 <sup>**</sup> |
| 加味温胆汤低剂量组 | 2.37±0.05 <sup>**</sup> | 0.54±0.06 <sup>**</sup> | 0.057±0.003              | 0.41±0.02 <sup>*</sup>  | 2.73±0.26 <sup>**</sup> | 4.22±0.25 <sup>**</sup> | 3.59±0.16 <sup>**</sup> |
| 加味温胆汤中剂量组 | 2.03±0.05 <sup>**</sup> | 0.17±0.03               | 0.065±0.002              | 0.48±0.02 <sup>**</sup> | 1.61±0.13 <sup>**</sup> | 3.53±0.49 <sup>**</sup> | 2.96±0.16 <sup>**</sup> |
| 加味温胆汤高剂量组 | 1.33±0.10 <sup>**</sup> | 0.13±0.03               | 0.010±0.003              | 0.37±0.01               | 1.95±0.10 <sup>**</sup> | 4.10±0.35 <sup>**</sup> | 2.70±0.23 <sup>**</sup> |

注：与空白组比较，<sup>#</sup> $P<0.05$ ，<sup>##</sup> $P<0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P<0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ 。

3.6 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞 PI3K/Akt/FOXO1 信号通路相关蛋白表达的影响 与空白组比较，模型组细胞 INSR、IRS-1、PI3K-p85、Akt、



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为罗格列酮组，D~F 分别为加味温胆汤低、中、高剂量组。与空白组比较，<sup>##</sup> $P<0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ 。

图 4 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞脂滴积累的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=4$ )

Fig. 4 Effect of Supplemented Wendan Decoction on lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=4$ )

表 2 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖摄取的影响 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Tab. 2 Effect of Supplemented Wendan Decoction on glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

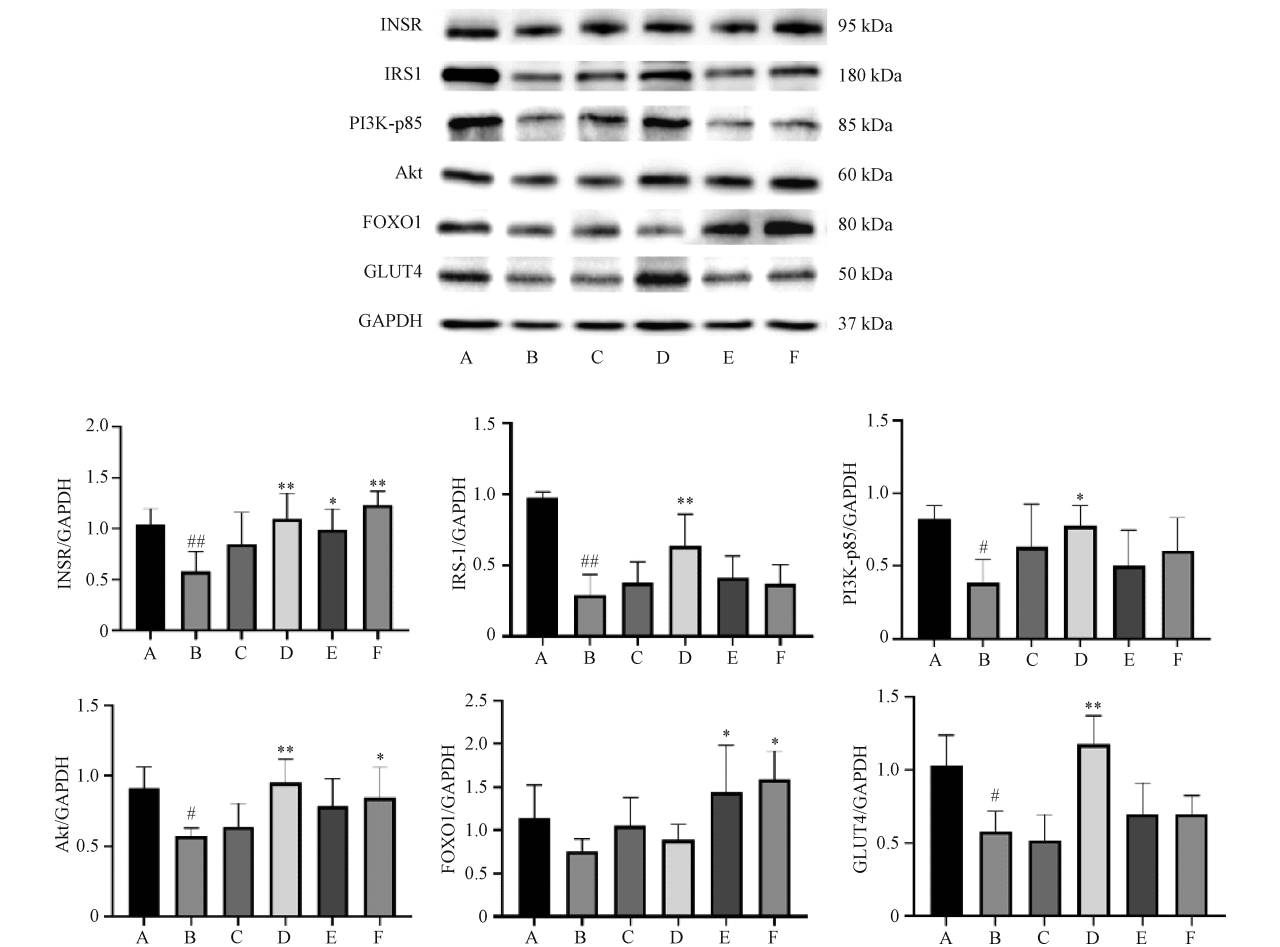
| 组别        | 24 h                     | 48 h                     |
|-----------|--------------------------|--------------------------|
| 模型组       | 8.65±0.16                | 10.99±0.15               |
| 罗格列酮组     | 10.50±0.18 <sup>**</sup> | 12.52±0.26 <sup>**</sup> |
| 加味温胆汤低剂量组 | 9.12±0.29                | 11.36±0.22               |
| 加味温胆汤中剂量组 | 8.55±0.30                | 11.18±0.18               |
| 加味温胆汤高剂量组 | 9.74±0.34 <sup>**</sup>  | 11.14±0.24               |

注：与模型组比较，<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ 。

*IRS-1*、*IL-6*、*TNF-α*、*IL-1β* mRNA 表达降低 ( $P<0.01$ )，罗格列酮组和加味温胆汤低、中剂量组细胞 *GLUT4* mRNA 表达升高 ( $P<0.05$ ， $P<0.01$ )，加味温胆汤低剂量组细胞 *PI3K* mRNA 表达升高 ( $P<0.01$ )，见表 3。

GLUT4 蛋白表达降低 ( $P<0.05$ ， $P<0.01$ )；与模型组比较，加味温胆汤低剂量组细胞 INSR、IRS-1、PI3K-p85、Akt、GLUT4 蛋白表达升高 ( $P<$

0.05,  $P<0.01$ ), 加味温胆汤中剂量组细胞 INSR、FOXO1 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ), 加味温胆汤高剂量组细胞 INSR、Akt、FOXO1 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 见图 5。



注: A 为空白组, B 为模型组, C 为罗格列酮组, D~F 分别为加味温胆汤低、中、高剂量组。与空白组比较,  $\#P<0.05$ ,  $\##P<0.01$ ; 与模型组比较,  $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ 。

图 5 加味温胆汤对 3T3-L1 脂肪细胞 PI3K/Akt/FOXO1 信号通路相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )  
Fig. 5 Effects of Supplemented Wendan Decoction on the expressions of PI3K/Akt/FOXO1 signaling pathway-related proteins in 3T3-L1 adipocytes ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

4 讨论

肥胖以内脏脂肪组织扩张为主要特点, 其过量导致的微环境稳态失衡是多种代谢性疾病的独立危险因素, 如糖尿病、高血压、心血管疾病等<sup>[9-11]</sup>。肥胖是 T2DM 的主要危险因素, 脂肪组织代谢调控全身胰岛素敏感性, 脂质的过度积累导致微环境紊乱, 干扰胰岛素信号通路, 降低葡萄糖摄取, 促进 IR, 诱导 T2DM<sup>[12]</sup>。因此, 立足于“未病先防、既病防变”的“治未病”思想, 减少脂质积累, 调节脂肪组织代谢平衡, 是预防肥胖发展为 T2DM 的关键。

中医认为, 肥胖病机为“虚, 痰, 瘀”, 脾虚为本, 痰瘀为标。温胆汤是临床治疗肥胖的经典方<sup>[13-14]</sup>, 而加味温胆汤在原方基础上加入黄芪、白芥子、丹参, 全方益气健脾不助邪, 行气祛痰不伤正, 课题组前期研究证实它可通过干预 PI3K/Akt 信号通路来对抗幼鼠营养性肥胖。本研究为更好地阐明加味温胆汤改善肥胖、预防肥胖相关 T2DM 的作用, 以 3T3-L1 脂肪细胞为体外研究模型, PPAR- $\gamma$  激动剂罗格列酮为阳性药物<sup>[15]</sup>, 探讨该方对脂肪细胞 PI3K/Akt/FOXO1 糖脂代谢通路的影响。

脂质的过度积累会诱发一系列代谢异常及炎症反应, 降低葡萄糖消耗, 增加 T2DM 患病风险<sup>[16]</sup>。PI3K/Akt/FOXO1 是胰岛素信号传导的经典通路<sup>[17]</sup>, 它作为调节糖脂代谢紊乱的重要靶点, 可调控机体葡萄糖转运, 调节胰岛素水平, 减少血糖血脂沉积, 降低炎症反应, 胰岛素与其受体结合

后激活 INSR，其中 IRS-1 是影响下游通路葡萄糖的摄取的关键<sup>[18]</sup>。研究表明，磷酸化的 IRS-1 募集 PI3K，进而激活 Akt 异位质膜，Akt 是诱导葡萄糖转运的重要信号分子，可直接调控 FOXO1 蛋白；FOXO1 作为胰岛素信号级联的重要节点，对抗氧化应激和改善糖脂代谢紊乱有重要意义<sup>[19-20]</sup>；GLUT4 被激活后，从胞内易位至胞膜，可调节机体对葡萄糖的摄取<sup>[21]</sup>。本研究结果显示，不同剂量加味温胆汤含药血清均能抑制脂肪细胞分化过程中的脂滴积累，增加细胞葡萄糖消耗量，上调 INSR、IRS-1、PI3K-p85、Akt、FOXO1、GLUT4 蛋白表达，激活 PI3K/Akt/FOXO1 通路的级联反应，减少炎症因子 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  释放，在一定程度上提高脂肪细胞葡萄糖摄取能力，其中低剂量组效果最显著。

综上所述，加味温胆汤可减少脂肪细胞脂质积累，调节葡萄糖代谢，改善炎症反应，其机制可能与调控 PI3K/Akt/FOXO1 信号通路、改善脂肪细胞糖脂代谢相关，具有改善肥胖、预防肥胖向 IR 甚至 T2DM 发展的潜力，为临床相关防治提供了实验依据。

参考文献：

[ 1 ] Chandrasekaran P, Weiskirchen R. The role of obesity in type 2 diabetes mellitus—An overview[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(3): 1882.

[ 2 ] Ruze R, Liu T, Zou X, *et al.* Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1161521.

[ 3 ] Klein S, Gastaldelli A, Yki-Järvinen H, *et al.* Why does obesity cause diabetes? [J]. *Cell Metab*, 2022, 34(1): 11-20.

[ 4 ] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版)(上) [J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(8): 668-695.

[ 5 ] 叶文举. 2 型糖尿病降糖药物的不良反应及联合用药情况分析[J]. 中国现代药物应用, 2023, 17(24): 152-154.

[ 6 ] 刘雅星, 周 静. 经方治疗肥胖的研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2024, 38(11): 81-84.

[ 7 ] 姚风云, 张 蓉, 左铮云, 等. 加味温胆汤调控 INSR/PI3K/Akt/GLUT4 信号通路抗雄性幼鼠营养性肥胖机制研究[J].

中华中医药学刊, 2021, 39(9): 1-4.

[ 8 ] 姚风云, 刘 超, 王炳志, 等. 加味温胆汤对雌性营养性肥胖大鼠 AMPK 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(9): 4363-4366.

[ 9 ] Mayoral L P, Andrade G M, Mayoral E P, *et al.* Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity[J]. *Indian J Med Res*, 2020, 151(1): 11-21.

[10] Rohm T V, Meier D T, Olefsky J M, *et al.* Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders[J]. *Immunity*, 2022, 55(1): 31-55.

[11] Afshin A, Forouzanfar M H, Reitsma M B, *et al.* Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(1): 13-27.

[12] Harford K A, Reynolds C M, McGillicuddy F C, *et al.* Fats, inflammation and insulin resistance: insights to the role of macrophage and T-cell accumulation in adipose tissue[J]. *Proc Nutr Soc*, 2011, 70(4): 408-417.

[13] 舒 晴, 喻松仁, 王 萍. 温胆汤方论辨析和干预肥胖研究概况[J]. 江西中医药, 2017, 48(7): 68-70.

[14] 叶 薇. 中药加味温胆汤治疗小儿单纯性肥胖效果分析[J]. 中外医疗, 2020, 39(4): 152-154.

[15] 罗新新, 徐国良, 黎 宇, 等. 葛根调节脂肪细胞糖脂代谢改善胰岛素抵抗的研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(14): 2687-2694.

[16] Wu H, Ballantyne C M. Metabolic inflammation and insulin resistance in obesity[J]. *Circ Res*, 2020, 126 ( 11 ): 1549-1564.

[17] Boucher J, Kleinridders A, Kahn C R. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 6(1): a009191.

[18] Lagathu C, Yvan-Charvet L, Bastard J P, *et al.* Long-term treatment with interleukin-1beta induces insulin resistance in murine and human adipocytes[J]. *Diabetologia*, 2006, 49(9): 2162-2173.

[19] 何瑞娟, 白 露, 谭攀攀, 等. 芍药苷通过调控 Akt/FoxO1 信号通路对 2 型糖尿病大鼠的保护作用[J]. 中成药, 2023, 45(8): 2732-2736.

[20] Deng A, Wang Y, Huang K, *et al.* Artichoke ( *Cynara scolymus* L.) water extract alleviates palmitate-induced insulin resistance in HepG2 hepatocytes *via* the activation of IRS1/PI3K/AKT/FoxO1 and GSK-3 $\beta$  signaling pathway[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1): 460.

[21] 白 颖, 赵丹丹, 朱如愿, 等. 降糖 3 号方对肥胖小鼠糖脂代谢及 PI3K/AKT 信号通路的影响[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(16): 3039-3043.