

胰高血糖素样肽 1 对骨骼肌成肌细胞增殖的调控及信号机制



申传安 柴家科 马丽 海恒林 张琳

【摘要】 **目的** 探讨胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 对骨骼肌成肌细胞增殖的调控作用及其信号机制。**方法** 体外培养大鼠骨骼肌成肌细胞株 L6, 并按随机数字表法分为 4 组: (1) 对照组, 培养液中除常规成分外不再添加其他物质; (2) GLP-1 组, 培养液中加入终浓度 10 nmol/L 的 GLP-1; (3) 磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 抑制剂组, 培养液中加入终浓度为 50 nmol/L 的 PI3K 特异性抑制剂渥曼青霉素; (4) GLP-1 + PI3K 抑制剂组, 培养液中加入终浓度 10 nmol/L 的 GLP-1 和终浓度 50 nmol/L 的渥曼青霉素。各组细胞接受上述处理后分别继续培养 24、48、72 h, 采用噻唑蓝法测定细胞增殖活性 (结果用吸光度值表示); 继续培养 24 h 时, 用流式细胞仪检测细胞周期分布, 行免疫组织化学染色检测细胞中增殖细胞核抗原 (PCNA) 表达, 蛋白质印迹法检测磷酸化 (p-) 蛋白激酶 B (Akt)、p-PI3K 的蛋白表达水平。对实验数据进行方差分析。**结果** (1) GLP-1 组细胞接受处理后 48、72 h, 增殖活性分别为 0.660 ± 0.120 、 0.870 ± 0.240 , 均显著高于对照组 (0.530 ± 0.060 、 0.700 ± 0.100 , F 值分别为 5.46、5.90, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。PI3K 抑制剂组各时相点增殖活性均低于对照组。GLP-1 + PI3K 抑制剂组处理 48、72 h, 细胞增殖活性分别为 0.510 ± 0.080 、 0.740 ± 0.160 , 与 GLP-1 组比较差异均有统计学意义 (F 值分别为 5.46、5.90, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。(2) 处理后 24 h, GLP-1 组 S 期细胞百分比为 $(15.7 \pm 0.4)\%$, 显著高于对照组 [$(13.6 \pm 0.6)\%$] 和 GLP-1 + PI3K 抑制剂组 [$(10.1 \pm 0.6)\%$]; PI3K 抑制剂组 S 期细胞百分比为 $(6.8 \pm 1.2)\%$, 明显低于对照组。以上各项比较 F 值均为 15.39, P 值均小于 0.01。(3) 处理后 24 h, GLP-1 组细胞 PCNA 增殖指数为 $(51.24 \pm 1.18)\%$, 显著高于对照组 [$(36.72 \pm 1.56)\%$] 和 GLP-1 + PI3K 抑制剂组 [$(25.90 \pm 1.22)\%$]; PI3K 抑制剂组 PCNA 增殖指数为 $(21.70 \pm 0.09)\%$, 明显低于对照组。以上各项比较 F 值均为 783.80, P 值均小于 0.05。(4) 处理后 24 h, GLP-1 组细胞 p-Akt 蛋白表达水平显著高于其余 3 组, PI3K 抑制剂组明显低于对照组。以上各项比较 F 值均为 94.43, P 值均小于 0.01。GLP-1 组、GLP-1 + PI3K 抑制剂组 p-PI3K 蛋白表达水平与对照组接近 (F 值均为 20.94, P 值均大于 0.05), PI3K 抑制剂组较对照组明显降低 ($F = 20.94$, $P < 0.05$)。**结论** GLP-1 可直接作用于骨骼肌成肌细胞, 通过加速细胞周期进程, 增加 DNA 合成, 促进细胞增殖。该作用与 PI3K/Akt 信号途径密切相关。

【关键词】 胰高血糖素样肽 1; 成肌细胞, 骨骼肌; 细胞增殖; 信号通路

Regulatory effect of glucagon-like peptide-1 on cell proliferation of skeletal myoblast strain L6 and its possible signal mechanism SHEN Chuan-an, CHAI Jia-ke, MA Li, HAI Heng-lin, ZHANG Lin. Burns Institute, the First Hospital Affiliated to the PLA General Hospital, Beijing 100048, China
Corresponding author: CHAI Jia-ke, Email: cjk304@126.com, Tel: 010-66867972

【Abstract】 **Objective** To study the regulatory effect of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) on cell proliferation of skeletal myoblast strain L6 and its possible signal mechanism. **Methods** L6 cells cultured in DMEM high glucose culture medium containing 10% FBS were divided into control group (C, without addition), GLP-1 group (G, added with 10 nmol/L GLP-1), PI3K inhibitor group (W, added with 50 nmol/L PI3K specific inhibitor wortmannin), and GLP-1 + PI3K inhibitor group (GW, added with 10 nmol/L GLP-1 and 50 nmol/L wortmannin) according to the random number table. Cell proliferation activity was detected with MTT assay at post culture hour (PCH) 24, 48, 72 (denoted as absorbance value). At PCH 24, the change in cell cycle was evaluated with flow cytometer, the expression level of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) was determined with immunohistochemical staining, the protein levels of phos-

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2011.05.003

基金项目:国家自然科学基金(30971128)

作者单位:100048 北京,解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所

通信作者:柴家科,Email:cjk304@126.com,电话:010-66867972

phorylated PI3K (p-PI3K) and p-Akt were determined with Western blotting. Data were processed with multi-group analysis of variance. **Results** (1) The cell proliferation activity at PCH 48, 72 in G group was respectively 0.660 ± 0.120 , 0.870 ± 0.240 , all significantly higher than those in C group (0.530 ± 0.060 , 0.700 ± 0.100 , with F value respectively 5.46, 5.90, $P < 0.05$ or $P < 0.01$). The cell proliferation activity in W group at each time point was lower than that in C group. The cell proliferation activity in GW group at PCH 48, 72 was respectively 0.510 ± 0.080 , 0.740 ± 0.160 , all lower than those in G group (with F value respectively 5.46, 5.90, $P < 0.05$ or $P < 0.01$). (2) The percentage of S phase cell in G group at PCH 24 [$(15.7 \pm 0.4)\%$] was significantly higher than that in C group [$(13.6 \pm 0.6)\%$] and GW group [$(10.1 \pm 0.6)\%$], while that in W group [$(6.8 \pm 1.2)\%$] was lower than that in C group (with F values all equal to 15.39, P values all below 0.01). (3) PCNA level in G group at PCH 24 [$(51.24 \pm 1.18)\%$] was markedly higher than that in C group [$(36.72 \pm 1.56)\%$] and GW group [$(25.90 \pm 1.22)\%$], and while in W group [$(21.70 \pm 0.09)\%$] was lower than that in C group (with F values equal to 783.80, P values all below 0.05). (4) The protein level of p-Akt in G group at PCH 24 was significantly higher than that in the other 3 groups, while that in W group was lower than that in C group (with F values equal to 94.43, P values all below 0.01). There was no obvious difference in protein level of p-PI3K at PCH 24 among G, GW, and C groups ($F = 20.94$, $P > 0.05$). The protein level of p-PI3K at PCH 24 in W group was lower than that in C group ($F = 20.94$, $P < 0.05$). **Conclusions** GLP-1 can promote cell proliferation of skeletal myoblast by accelerating the progression of cell cycle and increasing the synthesis of DNA, which can be attributed to PI3K/Akt signal pathway.

【Key words】 Glucagon-like peptide-1; Myoblasts, skeletal; Cell proliferation; Signal pathway

胰高血糖素样肽 1 (glucagon-like peptide 1, GLP-1) 是肠道 L 型细胞分泌的一种肠促胰岛素。它通过激活其受体,在调节胰岛 β 细胞的增殖和分化、抑制细胞凋亡、促进胰岛素释放、降低血糖以及改善糖耐量等方面发挥作用^[1-2]。目前对 GLP-1 的研究多集中于糖尿病的发生发展以及治疗领域,主要是 GLP-1 对胰岛 β 细胞的作用方面^[3-4]。近年来研究表明,在胰岛素作用的靶器官骨骼肌上,也存在高亲和力的 GLP-1 结合位点^[5]。但是关于 GLP-1 对骨骼肌的生物学作用及其机制报道较少。本研究以骨骼肌成肌细胞株 L6 为模型,探讨 GLP-1 对成肌细胞增殖能力的影响及相关信号通路。

1 材料与方法

1.1 细胞来源、主要试剂及仪器

大鼠骨骼肌成肌细胞株 L6 购自中国医学科学院细胞中心。GLP-1、磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 特异性抑制剂——渥曼青霉素 (wortmannin) 购自美国 Sigma 公司, DMEM 高糖培养基、FBS、青霉素、链霉素购自美国 Gibco 公司, 碘化丙啶 (PI)、噻唑蓝和二甲基亚砜 (DMSO) 购自北京鼎国生物技术有限公司, 增殖细胞核抗原 (PCNA) 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司, 羊抗小鼠 DyLight 594 荧光标记二抗、羊抗兔 IgG 二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 磷酸化 (p-) 蛋白激酶 B (Akt) 信号通路检测试剂盒购自美国 Cell Signaling Technology 公司, 二辛丁酸法 (BCA) 蛋白浓度定量试剂盒由美国 Pierce 公司生产。蛋白质印迹法检测系统购自美国 Bio-Rad 公

司, FACS Calibur 型流式细胞仪购自美国 BD 公司, Biotek 多功能检测仪购自美国 Biotek 公司。

1.2 细胞培养

采用含体积分数 10% FBS 的 DMEM 高糖培养液, 于 37 °C、体积分数 5% CO₂ 条件下培养 L6 细胞。待细胞进入对数生长期后, 2.5 g/L 胰蛋白酶消化, 制备细胞悬液待用。

1.3 实验分组及噻唑蓝法测定细胞增殖活性

将细胞悬液接种于 96 孔板 (1×10^4 个/mL, 每孔 100 μ L)。培养 24 h 后, 采用随机数字表法将细胞分为如下 4 组, 每组 24 孔: (1) 对照组, 同步骤 1.2 条件常规培养, 培养液中不再添加其他物质; (2) GLP-1 组, 培养液加入终浓度 10 nmol/L 的 GLP-1; (3) PI3K 抑制剂组, 培养液加入终浓度 50 nmol/L 的渥曼青霉素; (4) GLP-1 + PI3K 抑制剂组, 于培养液中加入终浓度为 10 nmol/L 的 GLP-1 以及终浓度 50 nmol/L 的渥曼青霉素。各组细胞处理后分别继续培养 24、48、72 h, 每组每时相点 8 孔。终止培养前 4 h 每孔加入 5 mg/mL 的噻唑蓝 20 μ L, 37 °C 培养箱内孵育 4 h, 加入 DMSO 150 μ L 振荡 10 min, 多功能检测仪测定波长 490 nm 下的吸光度值。

1.4 流式细胞仪检测细胞周期分布

将细胞悬液接种于 6 孔板 (1×10^5 个/mL, 每孔 0.5 mL)。培养 24 h 后同步骤 1.3 分组并处理, 每组 6 孔。继续培养 24 h, 消化收集细胞, 用体积分数 70% 乙醇 4 °C 过夜固定。次日用 PBS 洗去固定液, 加入 1 mL PI 染液 (其内含 0.25 mg/mL RNA 酶 A、20 μ g/mL PI), 4 °C 静置 30 min, 流式细胞仪检测。

1.5 免疫组织化学染色检测 PCNA 表达

取细胞悬液进行细胞爬片后,置于培养皿中培养 24 h,同步骤 1.3 分组并处理,每组 6 张爬片。继续培养 24 h,40 g/L 多聚甲醛固定,体积分数 1% 牛血清白蛋白封闭,PCNA 单克隆抗体(1:100)孵育过夜,羊血清代替一抗作阴性对照;DyLight 594 荧光标记二抗(1:500)避光孵育 15 min,荧光显微镜下观察拍照。阳性细胞胞核中可见红色荧光,每张爬片选取 3 个清晰视野,每视野统计 5000 个细胞中的阳性细胞数,取 3 个视野的平均值作为该爬片的阳性细胞数。按如下公式计算:PCNA 增殖指数 = PCNA 阳性细胞数 ÷ 细胞总数 × 100%。

1.6 蛋白质印迹法检测 p-Akt、p-PI3K 蛋白的表达

取细胞悬液接种于 6 孔板(1 × 10⁵ 个/mL,每孔 0.5 mL),培养 24 h 后同步骤 1.3 分组并处理,每组 6 孔细胞。继续培养 24 h 后收集细胞,提取蛋白,BCA 法定量。每个样本取 50 μg 蛋白行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,半干转膜,封闭,分别加入 p-Akt 一抗(1:2000)、p-PI3K 一抗(1:1000)4 ℃ 孵育过夜。漂洗,羊抗兔 IgG 二抗孵育,电化学发光法显影,X 线胶片曝光。使用 Image J 软件对图像进行分析,获取平均灰度值,以磷酸化蛋白与该类蛋白总量的比值表示结果。

1.7 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件进行方差分析。

2 结果

2.1 细胞增殖活性

GLP-1 组细胞接受 GLP-1 处理后 24 h,细胞增殖活性与对照组接近($F = 7.17, P > 0.05$);处理后 48、72 h,增殖活性明显高于对照组($F = 5.46, P < 0.01; F = 5.90, P < 0.05$)。GLP-1 + PI3K 抑制剂组细胞接受处理后 24、48、72 h,增殖活性均明显低于 GLP-1 组($F = 7.17, P < 0.01; F = 5.46, P <$

$0.01; F = 5.90, P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组细胞增殖活性比较($\bar{x} \pm s$)

组别	处理后时间		
	24 h	48 h	72 h
对照组	0.440 ± 0.060	0.530 ± 0.060	0.700 ± 0.100
GLP-1 组	0.490 ± 0.040	0.660 ± 0.120 ^b	0.870 ± 0.240 ^a
PI3K 抑制剂组	0.370 ± 0.080 ^d	0.490 ± 0.100	0.540 ± 0.040 ^a
GLP-1 + PI3K 抑制剂组	0.400 ± 0.020 ^d	0.510 ± 0.080 ^d	0.740 ± 0.160 ^c

注:表中数据为吸光度值,各数据样本数均为 8;GLP-1 为胰高血糖素样肽 1,PI3K 为磷脂酰肌醇 3 激酶;与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与 GLP-1 组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

2.2 细胞周期的变化

GLP-1 组细胞接受处理后 24 h,G0/G1 期细胞比例与对照组相比显著减少($F = 47.28, P < 0.05$),S 期细胞比例明显高于对照组($F = 15.39, P < 0.01$)。与对照组比较,PI3K 抑制剂组 G0/G1 期细胞比例增多($F = 47.28, P < 0.01$),S 期细胞比例降低($F = 15.39, P < 0.01$),而 G2/M 期细胞比例 2 组接近($F = 4.68, P > 0.05$)。与 GLP-1 组相比,GLP-1 + PI3K 抑制剂组 G0/G1 期细胞比例增加($F = 47.28, P < 0.05$),S 期比例减少($F = 15.39, P < 0.01$)。见图 1,表 2。

表 2 各组细胞周期分布比较(% , $\bar{x} \pm s$)

组别	G0/G1 期	S 期	G2/M 期
对照组	63.0 ± 0.4	13.6 ± 0.6	23.4 ± 0.8
GLP-1 组	60.8 ± 1.8 ^a	15.7 ± 0.4 ^b	23.7 ± 1.2
PI3K 抑制剂组	71.2 ± 1.0 ^b	6.8 ± 1.2 ^b	22.0 ± 1.0
GLP-1 + PI3K 抑制剂组	67.5 ± 0.7 ^c	10.1 ± 0.6 ^d	22.4 ± 0.5

注:表中各数据样本数均为 6;GLP-1 为胰高血糖素样肽 1,PI3K 为磷脂酰肌醇 3 激酶;与对照组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与 GLP-1 组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

2.3 免疫组织化学法检测 PCNA 蛋白表达

GLP-1 组 PCNA 阳性细胞数和增殖指数较对照组、GLP-1 + PI3K 抑制剂组显著升高(阳性细胞数比较, F 值均为 682.44, P 值均小于 0.05;增殖指数比

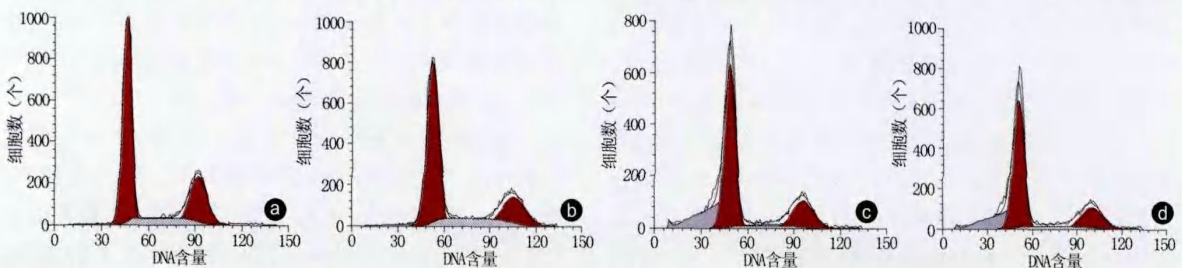


图 1 流式细胞仪检测各组细胞周期。a. 对照组;b. 胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 组;c. 磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 抑制剂组;d. GLP-1 + PI3K 抑制剂组

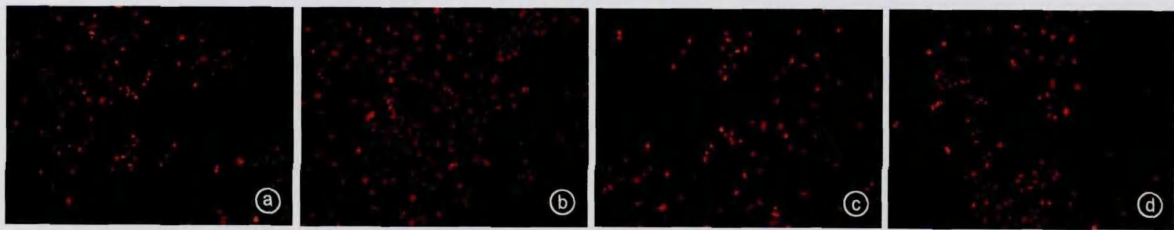


图 2 免疫组织化学法检测各组细胞增殖细胞核抗原蛋白表达 DyLight 594 × 100。a. 对照组阳性细胞 (红色荧光) 较少; b. 胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 组阳性细胞较多, 呈强表达; c. 磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 抑制剂组阳性细胞较少; d. GLP-1 + PI3K 抑制剂组阳性细胞较少

较, F 值均为 783.80, P 值均小于 0.05)。见图 2, 表 3。

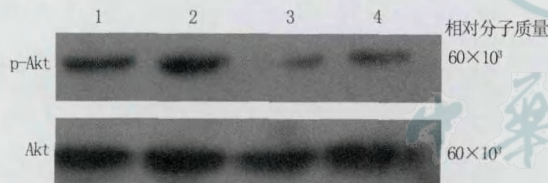
表 3 免疫组织化学法检测各组细胞 PCNA 表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	阳性细胞数 (个)	PCNA 增殖指数 (%)
对照组	6	1836 ± 78	36.72 ± 1.56
GLP-1 组	6	2562 ± 59 ^a	51.24 ± 1.18 ^a
PI3K 抑制剂组	6	1083 ± 45 ^a	21.70 ± 0.09 ^a
GLP-1 + PI3K 抑制剂组	6	1295 ± 61 ^b	25.90 ± 1.22 ^b

注: PCNA 为增殖细胞核抗原, GLP-1 为胰高血糖素样肽 1, PI3K 为磷脂酰肌醇 3 激酶; 阳性细胞数的统计基数为 5000 个细胞; 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 GLP-1 组比较, ^b $P < 0.05$

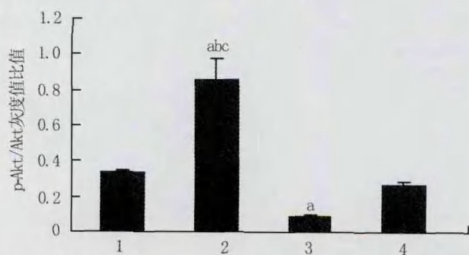
2.4 蛋白质印迹法检测 p-Akt、p-PI3K 蛋白的表达

GLP-1 组细胞 p-Akt 蛋白表达水平显著高于其余 3 组 (F 值均为 94.43, P 值均小于 0.01); PI3K 抑制剂组细胞 p-Akt 蛋白表达水平明显低于对照组 ($F = 94.43, P < 0.01$)。见图 3, 4。



注: 1. 对照组; 2. 胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 组; 3. 磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 抑制剂组; 4. GLP-1 + PI3K 抑制剂组

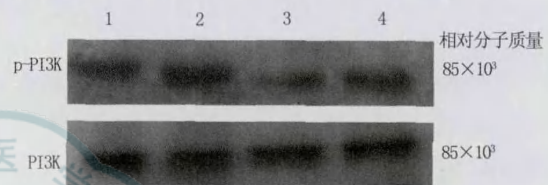
图 3 蛋白质印迹法检测各组细胞磷酸化 (p-) 蛋白激酶 B (Akt) 蛋白表达



注: 1. 对照组; 2. 胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 组; 3. 磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 抑制剂组; 4. GLP-1 + PI3K 抑制剂组; 与对照组比较, ^a $P < 0.01$; 与 PI3K 抑制剂组比较, ^b $P < 0.01$; 与 GLP-1 + PI3K 抑制剂组比较, ^c $P < 0.01$

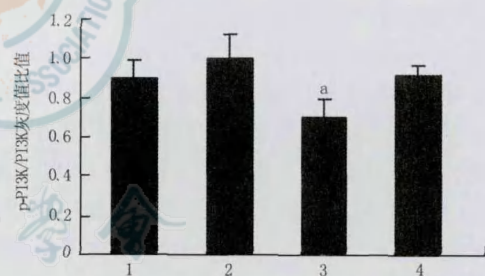
图 4 各组细胞磷酸化 (p-) 蛋白激酶 B (Akt) 蛋白表达水平比较

GLP-1 组、GLP-1 + PI3K 抑制剂组 p-PI3K 蛋白表达水平与对照组接近 (F 值均为 20.94, P 值均大于 0.05), PI3K 抑制剂组的 p-PI3K 表达水平明显低于对照组 ($F = 20.94, P < 0.05$)。见图 5, 6。



注: 1. 对照组; 2. 胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 组; 3. PI3K 抑制剂组; 4. GLP-1 + PI3K 抑制剂组

图 5 蛋白质印迹法检测各组细胞磷酸化 (p-) 磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 蛋白表达



注: 1. 对照组; 2. 胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 组; 3. PI3K 抑制剂组; 4. GLP-1 + PI3K 抑制剂组; 与对照组比较, ^a $P < 0.05$

图 6 各组细胞磷酸化 (p-) 磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 的蛋白表达水平比较

3 讨论

骨骼肌是机体最大的蛋白质库和糖代谢的主要靶组织。严重烧(创)伤、大手术后、脓毒症等情况下, 机体普遍存在胰岛素抵抗现象, 骨骼肌组织常常发生以细胞凋亡、蛋白质高分解、糖利用障碍为特征的代谢紊乱, 使骨骼肌严重消耗和萎缩, 导致机体免疫力下降、易感性增加、创面愈合延迟等, 严重影响患者预后和生存质量^[6-7]。骨骼肌在功能代偿或受到损伤时, 肌纤维基膜下的卫星细胞被激活, 产生大量成肌细胞以修复受损的肌纤维, 或生成新的肌纤维以恢复骨骼肌组织的结构与功能。然而由于损伤

类型、损伤严重程度、伤者年龄等因素不同,有些损伤往往不能充分修复。因此,提高骨骼肌成肌细胞的增殖能力是减轻骨骼肌消耗、增强免疫力、降低感染率和促进创面修复的重要途径。GLP-1 是近年研究发现的一种肠源性激素,主要由末端空肠、回肠和结肠的朗罕细胞所分泌。它可以促进胰岛 β 细胞的增殖和分化、抑制胰岛细胞凋亡、诱导前胰岛素基因的转录,促进胰岛素的成熟和分泌;同时抑制胰高血糖素的产生,使血糖降低并维持在生理水平。GLP-1 受体除分布于胰腺组织外,还见于心、脑、肺、肾等脏器,其分布的广泛性也决定了其作用的广泛性^[8]。由于胰岛素作用的靶器官骨骼肌上也存在高亲和力的 GLP-1 结合位点^[5],故笔者以体外培养的骨骼肌成肌细胞株 L6 为模型进行观察。

本研究结果表明, GLP-1 组 L6 细胞增殖活性高于其余 3 组。细胞周期分析结果显示, GLP-1 组细胞接受 GLP-1 处理 24 h, S 期细胞百分比明显高于对照组, G0/G1 期细胞比例较对照组减少。上述结果说明: GLP-1 能够直接作用于骨骼肌成肌细胞,通过影响细胞 DNA 合成期而改变细胞周期,即促进细胞从 G1 期进入 S 期,使细胞增殖。PCNA 是一种表达水平随细胞周期变化而波动的高度保守的生长调控蛋白,与细胞 DNA 合成关系密切,在细胞增殖的启动方面起着重要作用。PCNA 量的变化与 DNA 合成变化同步,其在细胞中的表达水平可作为评价细胞增殖的可靠指标。本研究结果显示, GLP-1 孵育细胞(GLP-1 组) 24 h, 即能显著增加细胞 PCNA 增殖指数。这从另一方面提示 GLP-1 增加了骨骼肌成肌细胞的增殖活性。

GLP-1 通过什么信号途径促进骨骼肌成肌细胞增殖? 研究显示, GLP-1 促进胰岛 β 细胞的增殖与 PI3K/Akt 信号通路密切相关^[9-10]。PI3K/Akt 信号通路是由 PI3K 家族与其下游分子丝氨酸(Ser)/苏氨酸(Thr)蛋白激酶 Akt 组成,该通路广泛存在于细胞中,参与对细胞增殖、凋亡及分化等的调节。Akt 是 PI3K 的下游主要效应物。PI3K 在各种因素作用下被激活后,可催化 Akt 的 Thr 308 位点、Ser 473 位

点磷酸化。Akt 蛋白磷酸化水平是激活 PI3K/Akt 信号通路的关键因素。本研究蛋白质印迹法检测结果显示, GLP-1 组细胞接受处理 24 h, 细胞增殖活性增强的同时,胞内 Akt 蛋白总量无显著变化,但是 Akt Ser 473 位点的磷酸化(p-Akt)水平显著高于对照组; GLP-1 + PI3K 抑制剂组接受处理 24 h, p-Akt 水平得以下调, PI3K/Akt 信号通路活性被抑制。结合前述细胞增殖情况可认为: GLP-1 能直接作用于 L6 细胞,上调 p-Akt 水平,增强 PI3K/Akt 信号通路活性,这是导致细胞增殖活性升高的重要原因。

参考文献

- [1] Perfetti R, Zhou J, Doyle ME, et al. Glucagon-like peptide-1 induces cell proliferation and pancreatic-duodenum homeobox-1 expression and increases endocrine cell mass in the pancreas of old, glucose-intolerant rats. *Endocrinology*, 2000, 141 (12): 4600-4605.
- [2] Farilia L, Bulotta A, Hirshberg B, et al. Glucagon-like peptide 1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets. *Endocrinology*, 2003, 144 (12): 5149-5158.
- [3] Doyle ME, Egan JM. Mechanisms of action of glucagon-like peptide 1 in the pancreas. *Pharmacol Ther*, 2007, 113(3) :546-593.
- [4] Shen CA, Fagan S, Fischman AJ, et al. Effects of glucagon-like peptide 1 on glycemia control and its metabolic consequence after severe thermal injury--studies in an animal model. *Surgery*, 2011, 149(5) :635-644.
- [5] Villanueva-Peñacarrillo ML, Martín-Duce A, Ramos-Álvarez I, et al. Characteristic of GLP-1 effects on glucose metabolism in human skeletal muscle from obese patients. *Regul Pept*, 2011, 168 (1/2/3) :39-44.
- [6] 柴家科, 申传安, 盛志勇. 严重烧伤脓毒症患者骨骼肌蛋白分解代谢的临床研究. *中华医学杂志*, 2005, 85(41) :2895-2898.
- [7] 柴家科. 严重烧伤后骨骼肌消耗的机制与治疗前景思考. *中华烧伤杂志*, 2009, 25(4) :243-245.
- [8] 沙伟伟, 谢云. 胰高血糖素样肽 1 的研究. *医学综述*, 2008, 14 (1) :24-26.
- [9] Friedrichsen BN, Neubauer N, Lee YC, et al. Stimulation of pancreatic beta-cell replication by incretins involves transcriptional induction of cyclin D1 via multiple signalling pathways. *J Endocrinol*, 2006, 188(3) :481-492.
- [10] Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 and the islet beta-cell: augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis. *Endocrinology*, 2003, 144(12) :5145-5148.

(收稿日期:2011-07-18)

(本文编辑:罗勤)

登陆《中华烧伤杂志》网站“<http://www.zhsszz.org>”,点击“期刊目录”板块,免费共享同期全文发布资讯,欢迎浏览。