

렛 근육세포 L6에서 동글레 추출물의 인슐린저항성 개선

최미애*

대구한의대학교 한방산업대학 한방식품조리영양학부

Attenuation of insulin resistance using steamed *Polygonatum odoratum* var *pluriflorum* extract in rat skeletal muscle cells L6 myoblast

Mi-Ae Choi*

Dept. of Food Science and Nutrition, Daegu Haany University, Gyeongbuk, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this study was to investigate inhibitory effects of steamed *Polygonatum odoratum* extract (POE) on insulin resistance in rat skeletal muscle cells, L6 cells.

Methods : *Polygonatum odoratum* (*P. odoratum*) extract was extracted with ethyl acetate. Activity of α -glucosidase in POE was measured for blood glucose regulation. MTT assay was examined for cell toxicity. Western blot analysis for measurement of adiponectine, peroxisome proliferator-activated receptor ($\text{PPAR}\gamma$), insulin receptor substrate (IRS), glucose transporter 4 (Glut-4) and phosphorylation of serine/threonine-specific protein kinase (Akt) expressions were performed. Akt signaling pathway were analyzed with LY294002, which is a specific PI3K/Akt inhibitor.

Results : The results revealed that POE inhibited α -glucosidase activity. Treatment of POE in L6 cells inhibited the differentiation of L6 cells compared to those of vehicle control. Additionally, protein expressions of adiponectine, $\text{PPAR}\gamma$, IRS and Glut-4 were significantly regulated compared to those of vehicle control ($p < 0.05$), respectively. Furthermore, phosphorylation of Akt was increased in L6 cells treated with POE compared to that of vehicle control ($p < 0.05$). pAkt expression was significantly accentuated with Akt inhibitor (LY294002).

Conclusions : These results suggest that POE may have potential as a natural agent for prevention/improvement of diabetes, especially, regulation of blood glucose. Therefore, further additional study should be conducted to elucidate in depth the pharmaceutical efficacy of these.

Key words : Insulin resistance, Glut-4, $\text{PPAR}\gamma$, adiponectin, IRS, Akt

서론

비만·과체중 인구는 전세계 인구의 30% 도달하며 우리나라의 비만인구도 지난 십년동안 지속적인 증가 추세를 보이고 있다^{1,2)}. 비만은 과도한 지방축적에 의해 나타나는 현상이며, 지방과다증, 이상지질증, 인슐린저항성 및 지방간과 같은 대사증후군과 밀접한 관련성이 있다³⁾. 우리나라비만 환자의 44.4%가 당뇨병환자로 보고되어 비만으로 인한 당뇨 유병률이 심각하게 증가하고 있다⁴⁾.

동글레(*Polygonatum odoratum* var *pluriflorum*)는 백합과 초본 식물로 전국에 널리 자생하며, 인공 재배 가능 식용 식물이다. 같은 속에 속하는 식물로는 각시동글레, 용동글레, 진황정, 시베리아 동글레, 큰동글레 등이 있으며, 뿌리줄기를 건조시켜 약초로 이용할 때에는 황정 또는 옥죽이라고 불린다^{5,6)}. 그 추출물이 혈당 강하, 자양강장, 강심작용, 암치료, 갈증해소, 영양불량, 폐결핵, 당뇨등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다⁷⁾. 최근 건강 지향적 트렌드에 맞춰 다양한 기호식품의 건강기능성 식품으로의 구매 선호도가 높다. 이에 동글

*Corresponding author : Mi-Ae Choi, Dept. of Food Science and Nutrition, Daegu Haany University, Gyeongbuk, Republic of Korea
· Tel : +82-53-819-1561 · Fax : +82-53-819-1494 · E-mail : miechoi@hanmail.net
· Received : 18 August 2015 · Revised : 12 September 2015 · Accepted : 14 September 2015

레 성분의 생리적 효능을 이용한 다양한 제품 개발 뿐 만 아니라 동굴레의 증자 및 덕음조건 등에 따른 유효성분의 효능 변화에 대한 연구가 진행되고 있다⁸⁻¹⁰⁾. 증자 동굴레 추출물의 선행연구에서 강등은 증자 동굴레 추출물(POE)의 우수한 항산화력을 관찰 할 수 있었을 뿐만 아니라 지방세포 3T3-L1 에서 초기 지방세포 분화 억제 및 지방합성 억제 효과가 관찰되어 항비만 예방 및 치료에 대한 후보 약물로써 활용성이 보고 하였다¹¹⁾. 따라서 본 연구에서는 증자 동굴레 추출물의 제2형 당뇨병 예방 및 치료에 매우 중요한 혈당유지와 이와 밀접한 관련 있는 근육세포에서의 포도당 이용률, 인슐린 저항성 및 그 기전을 확인하였다.

재료 및 방법

1. 추출물의 조제

본 실험에 사용한 동굴레 (국내산, 대원약업사, 대구)뿌리는 세척하고 껍질을 제거한 다음, 수증기로 1시간 증자하고 55~60℃ 범위에서 열풍건조기로 6시간 건조하여 선행연구¹¹⁾와 같은 방법으로 추출하여 동결건조하여 시료를 얻은 후에 methanol에 용해하여 실험에 사용하였다.

2. α -glucosidase 활성 측정

α -Glucosidase 활성 억제 효과 측정은 Watanabe의 방법으로 측정하였다¹²⁾. 100 mM phosphate buffer(pH 7.0)로 yeast α -glucosidase (0.7 U, Sigma St. Louis, USA)와 p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (5 mM)를 각각 용해시켜 효소와 기질 용액으로 준비하였다. 효소 용액 50 μ l, 증자 동굴레 추출물 10 μ l 및 완충용액 890 μ l를 넣고 섞은 다음, 5분 동안 실온에서 배양하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다(SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA). 여기에 기질 용액 50 μ l를 가하고 다시 5분 동안 배양시킨 후 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. Positive control로는 acarbose를 사용하였다. α -glucosidase 활성 저해율은 다음 식에 의해 산출하였다.

저해율(%) =

$$[1 - (\text{시료 첨가구의 흡광도}) / (\text{시료 무 첨가구의 흡광도})] \times 100$$

3. 세포배양

본 실험에 사용한 세포주는 American type culture collection (ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입한 랫 근육세포(rat myoblast 미분화 근원 세포) L6을 사용하였다. 세포는 high-glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Thermo Scientific, USA) 배지 (10% fetal bovine serum (FBS, Thermo Scientific, USA), 1% penicillin-streptomycin (P/S 포함)를 처리하여 37℃, 5% CO₂ 배양기(MCO-15AC, SANYO, Japan)에서 배양한 후, 약 70% confluent 해졌을 때 배양액을 근관세포(myotube) 분화유도 배양액 (0.5 mM 3-isobutyl-1-me thylxanthine (IBMX, Sigma Aldrich, USA), 2 μ M Dexametasone (DEX, Sigma Aldrich, USA),

2 μ g/ml insulin (Sigma Aldrich, USA) / 10% FBS)으로 바꾸어 증자 동굴레 추출물을 처리하여 2일간 배양한다. 2일 후 2 μ g/mL insulin/10% FBS 배지로 교환하며, 약물을 이틀에 한 번씩 5번 처리하였다.

4. 세포 생존율 측정

L6 세포를 96 well plate에 2×10^6 cells/ml로 분주하여 안정화시킨 후 증자 동굴레 추출물 농도 별로 24시간 처리하였다. 배양 후 배지를 제거하고 3-[4,5-dimethylthiazolyl]-2,5-di phenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma Aldrich, USA) 시약을 0.5 mg/ml 농도로 첨가하고 2시간 뒤 생성된 불용성 결정을 dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma Aldrich, USA)로 완전히 녹인 다음, microplate reader (TECAN Austria GmbH, Austria)를 이용하여 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 실험결과인 세포 생존율은 대조군에 대한 백분율로 표시하여 세포 독성 실험하였다.

5. 세포막 단백질 분리

분화한 L6 근관세포(myotube)를 FBS 무첨가 DMEM에서 일정시간 배양한 후, insulin과 0.2 mg/ml 농도의 증자 동굴레 추출물을 처리하였다. 세포 배양액을 제거하고, Krebs-Henseleit buffer modified(KHB) buffer (Sigma Aldrich, USA)로 세척한 후, RIPA buffer (Invitrogen, USA)를 처리하여 스크레이퍼를 이용하여 세포를 떼어낸 후 용해하였다. 이 균질액을 500 \times g, 4℃에서 10분간 원심분리한 다음, 그 상층액을 취한 후, 다시 12,000 \times g, 4℃에서 1시간 동안 원심분리 하였다. 그 pellet을 다시 완충액에 균질화한 다음, 15,000 \times g, 4℃에서 15분간 원심분리하고 그 상층액을 세포막 단백질 분석시료로 이용하였다

6. Western blot

적정량의 단백질을 10~12% sodium dodecyl sulfate (SDS)-PAGE에 분리한 후, Polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane으로 전이시켰다. 단백질 전이된 membrane을 5% skim milk를 처리하여 비특이적인 단백질에 대한 blocking을 실시하고, Adiponetine, glucose transporter 4 (Glut-4), insulin receptor substrate (IRS), proliferater activated receptor- γ (PPAR γ), serine/threonine-specific protein kinase (Akt), β -actin 단백질 항체(Santa Cruz, USA)를 4℃에서 하룻밤 각각 반응 처리하였다. TBS-T로 세척한 후에 각각의 단백질 항체에 알맞은 2차 항체로 반응 하여 ECL 시약을 처리하여 X-ray film에 감광시켜 타겟 단백질 발현량을 관찰하였다.

7. 통계방법

통계처리(Student's *t*-test)는 GraphPad Prism 5 program (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)을 사용하였고, 대조세포에 대한 유의성 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 실시하였다. 밴드의 강도는 L process and multi gauge software

(Version 2.01, Fujifilm)을 사용하여 분석 정량하였다.

결 과

1. α -glucosidase 저해 활성

α -Glucosidase는 α -amylase에 의해 분해된 당질을 최종적으로 단당류로 전환시킨다(Baron AD 1998; Shinde J 2008). 이러한 효소의 활성 저해는 당질 가수분해와 흡수과정을 지연시킴으로 식후 혈당의 급격한 상승을 막아줄 것으로 생각된다. 증자 동굴레 추출물로부터 α -glucosidase 저해 활성을 살펴 본 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 증자 동굴레 추출물 0.5 mg/ml 농도에서는 양성대조물질인 acarbose의 저해 활성에 비해 유의적으로 낮은 효과를 나타냈지만, 증자 동굴레 추출물 1 mg/ml 농도에서는 대조구인 acarbose와 통계적으로 유의한 차이 없이 높은 저해 활성을 나타냈다(각각 55.7%, 54%). 본 연구에서는 당뇨치료제로 쓰이는 acarbose와 유사한 α -glucosidase 저해 활성 효과를 보여 주어 당뇨 개선을 위한 천연소재로 이용 가능성이 사료된다.

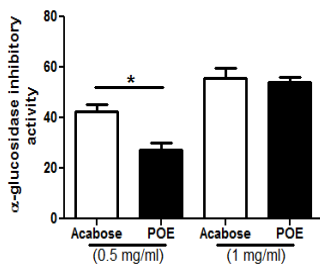


Fig. 1. α -Glucosidase inhibitory activities of steamed Polygonatum odoratum extract (POE). Concentration of POE and acarbose (positive control) are 0.5 and 1 mg/ml. Data are expressed as mean \pm S.D. Statistical significances of differences were determined by student's *t*-test ($P < 0.05$).

2. 세포 독성

증자 동굴레 추출물의 세포 독성을 알아보기 위해 L6 근육 세포에 0.05~1 mg/ml 농도의 증자 동굴레 추출물을 각각 처리하고 MTT 분석법을 이용하여 세포생존율을 측정하였다. 그 결과, 두 세포 모두 증자 동굴레 추출물의 처리농도에서 세포 독성을 나타내지 않았다. 따라서 본 실험에서는 세포 생존율에 영향을 미치지 않는 농도인 1 mg/ml 농도에서 이후 실험들을 진행하였다(Fig. 2).

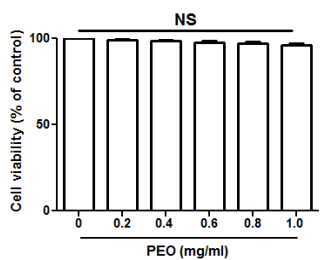


Fig. 2. Effect of POE on cell viabilities in 3T3-L1 cells. The data were expressed as the mean \pm SD. (n=3) from three independent experiments. NS, no significance.

3. 인슐린 저항성 관련 유전자 발현

근육세포 L6에 동굴레 추출물처리가 인슐린 저항성과 관련한 근육 세포에 존재하는 비만관련 지표인 초기 지방세포분화 전사인자인 PPAR γ 발현을 유의적($P < 0.05$)으로 억제하며 (Fig. 3A), adiponectin 발현(Fig. 3B)과 혈액 중 포도당의 세포내 이용률에 영향 미치는 IRS, Glut-4 발현(Fig. 3C, D)을 유의적($P < 0.05$)으로 증가시켰다. 이러한 결과는 증자 동굴레 추출물이 근육세포에서의 포도당 이용률에 영향을 미쳐 체내 혈당 유지와 인슐린 저항성 예방 및 개선 효과가 있을 것으로 사료된다.

한편, 증자 동굴레 추출물 처리 세포에서 Akt 인산화(Fig. 3E)을 증가시켰다. Akt 인산화 증가는 Glut-4의 세포막 이동을 증가시켜 세포내 포도당 이용을 증가 시킨다. 이 기전을 확인 하기 위해 Akt 기전 억제제 LY294002 처리 시 Akt 인산화가 유의적($P < 0.05$)으로 억제되었고, 반면에 Akt 억제제를 처리하지 않으면 Akt 인산화가 동굴레 추출물 처리에 의해 유의적($P < 0.05$)으로 증가되었다. 따라서 동굴레 추출물의 혈당조절 기전은 Akt 인산화 기전을 통한다는 것을 확인할 수 있다.

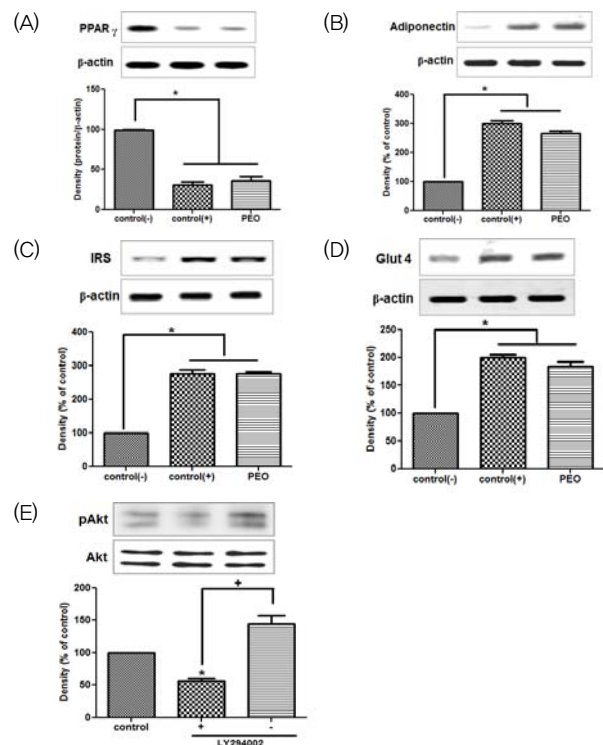


Fig. 3. Effects of POE on PPAR γ , adiponectin, IRS, Glut-4 and phosphorylation of Akt protein expressions in L6 cells treated with /without 1 mg/ml of POE. After 5 days, those of the protein expression levels were measured using western blot analysis. Total proteins were isolated and subjected to SDS-polyacrylamide gels, followed by Western blotting using the indicated antibodies and an ECL detection system. β -actin, total Akt was used as an internal control. 50 μ M LY294002, an Akt inhibitor, treated 1 hr before treatment of POE. Densitometry was performed using L Process and Multi Gauge software (Version 2.01, Fujifilm), and represent the average densitometric analyses as compared with β -actin and total Akt for pAkt. The data were expressed as the mean \pm SD. (n=3) from three independent experiments. * $p < 0.05$, significant between the vehicle control(-), sulforaphane as positive control(+) and POE treated cells.

고찰

PPAR α 는 지방분화에 관련된 전사인자^{14,15})로 활성화되면 지방산의 흡수(uptake)와 포착(trapping)을 전달하는 유전자의 활성을 증가시켜 지방세포의 지질 축적을 자극하여 비만을 유도하는 인자로 알려져 있다¹⁶⁻¹⁸). 따라서 증자 등굴레 추출물처리 세포에서 PPAR α 발현이 낮은 것은 세포에 지방의 축적을 억제하므로 지방세포의 증가가 원인인 비만을 예방하여 인슐린 저항성이 나타나는 제2형 당뇨병 예방에 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다. Adiponectin은 세포에서의 인슐린 감수성과 매우 밀접한 인자로 알려져 있으며 지방조직의 부피와 역의 상관관계를 보인다^{19,20}). 이 유전자는 근육에서의 지방산 산화를 유도하여 인슐린 저항성을 낮추어 인슐린의 감수성과 포도당의 이용률을 증가시킨다²¹). 본 실험에서 Adiponectin 발현 증가는 인슐린 저항성과 혈당조절에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 혈액으로부터 포도당의 세포내 유입 시 인슐린의 감수성이 증가하면 IRS 발현이 증가되며 이는 Akt 인산화를 촉진하여 세포질에서 Glut-4의 세포막으로 이동을 촉진하므로 혈액에서 포도당 유입이 증가되어 혈당을 조절하게 된다²²⁻²⁶). 본 실험의 증자 등굴레 추출물 처리 세포에서 IRS, Akt 인산화 그리고 Glut-4의 발현 증가는 등굴레 추출물이 혈액으로부터 세포내 포도당 유입의 증가를 유도할 수 있으며, 그 기전이 Akt 인산화 기전을 통하는 것임을 Akt 억제제 (LY294002, 50 μ M)를 처리하여 확인하므로 등굴레 추출물이 제 2형 당뇨병에서 혈당조절 및 인슐린 저항성을 개선하는데 효과가 있을 것으로 사료되어 본 연구결과를 보고한다. 나아가 본 실험을 바탕으로 *in vivo* 동물모델에서의 보다 더 정확한 분자적 기전 확인을 진행할 계획이다.

결론

본 연구에서 증자 등굴레 추출물의 L6 근육세포에서 인슐린저항성 및 혈당강하 효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 증자 등굴레 추출물(POE)은 α -glucosidase 저해 활성 효과를 보여 주어 당뇨 개선을 위한 천연소재로 이용 가능성을 관찰하였다.
2. 증자 등굴레 추출물은 0.05~1.0 mg/ml 처리 농도에서 L6 세포에 독성을 나타내지 않았다.
3. POE 처리가 랫 근육세포인 L6세포에서 비만관련 지표인 초기 분화전사인자 PPAR γ 발현이 유의적인 수준($p < 0.05$)으로 억제되었고, 체내 포도당의 세포내 이용률에 영향 미치는 adiponectin, IRS, Glut-4 발현을 유의적($p < 0.05$)으로 증가시켰다. 이러한 결과는 등굴레 추출물이 근육세포에서의 포도당 이용률에 영향을 미친다.
4. Glut-4의 세포막 이동에 영향을 미치는 Akt 인산화 수준은 POE 처리 세포에서 LY294002 처리시 대조세포에 비하여 유의적인 수준($p < 0.05$)으로 억제되었지만

처리하지 않은 세포에서 유의적으로 증가하여 등굴레 추출물의 세포내 포도당 유입과 인슐린 저항성 개선 기전이 Akt인산화 기전을 통하는 것을 확인하였다.

이상의 결과에서 증자 등굴레 추출물(POE)의 우수한 혈당강하 효과를 관찰할 수 있었을 뿐만 아니라 비만유도 지방세포 분화 관련인자인 PPAR γ 발현억제 지방축적 억제 및 Akt의 인산화 증가로 세포내 포도당 이용률 증가 효과가 관찰되어 체내 혈당 조절 및 인슐린 저항성 예방 및 치료 작용이 기대 되어진다.

References

1. Korean Society For The Study of Obesity Fact Sheet, 2010. [5 screens] Available from : URL : <http://www.kosso.or.kr/general/>
2. World Health Organization (WHO). Obesity and overweight in Media centre, 2011.
3. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. Nature, 2000 ; 404(6778) : 635-43.
4. Korean Diabetes Association, Diabetes factsheet 2013. [9 screens]. Available from : http://www.diabetes.or.kr/temp/diabetes_factsheet_20131111.
5. Lee CB, Daehan plant handbook, Seoul : Hyangmoonsa, 2985 : 213-4.
6. Rural development administration national crop experiment station, Classification of Korean medicinal plant resources, Korea, 1990 : 243-4.
7. Ahn DG, Restorative of Korea, Seoul : Yeollin Chakdle, 1993 : 307-27.
8. Kim KT, Kim JO, Lee GD, Kwon JH. Antioxidative and nitrite scavenging activities of polygonatum odoratum root extracts with different steaming and roasting conditions. Korean J Food Preserv, 2005 ; 12(2) : 166-2.
9. Shu XS, Lv JH, Tao J, Li GM, Li HD, Ma. Antihyperglycemic effects of total flavonoids from Polygonatum odoratum in STZ and alloxan-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol, 2009 ; 124(3) : 539-54.
10. Lan G, Chen H, Chen S, Tian J. Chemical composition and physicochemical properties of dietary fiber from Polygonatum odoratum as affected by different processing methods. Food Res Int, 2012 ; 49(1) : 406-10.
11. Kang BT, Choe wy, Park DC, Kim JK, Park M, Kim SO, Kim MR. Effects of steamed Polygonatum odoratum extract on inhibition of adipocyte differentiation and lowering lipid in 3T3-L1 adipocytes. Kor J Herbol, 2014 ; 29(2) : 15-21.
12. Watanabe J, Kurihara H, Niki R. Isolation and identification of a α -glucosidase inhibitors from

- Tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci Biotechnol Biochem*. 1997 ; 61(1) : 177-8.
13. Barak Y, Nelson MC, Ong ES, Jones YZ, Ruiz-Lozano P, Chien KR, Koder A, Evans RM. PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell*. 1999 ; 4(4) : 585-95.
 14. Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS, Spiegelman BM, Mortensen RM. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Mol Cell*. 1999 ; 4(4) : 611-7.
 15. Schoonjans K, Peinado-Onsurbe J, Lefebvre AM, Heyman RA, Briggs M, Deeb S, Staels B, Auwerx J. PPAR alpha and PPAR gamma activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via a PPRE in the lipoprotein lipase gene. *EMBO J*. 1996 ; 15(19) : 5336-48.
 17. Olswang Y, Cohen H, Papo O, Cassuto H, Croniger CM, Hakimi P, Tilghman SM, Hanson RW, Reshef L. A mutation in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-bindingsite in the gene for the cytosolic form of phosphoenolpyruvate carboxykinase reduces adipose tissue size and fat content in mice. *Proc Natl Acad Sci, U S A*. 2002 ; 99(2) : 625-30.
 18. Glorian M, Duplus E, Beale EG, Scott DK, Granner DK, Forest C. A single element in the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene mediates thiazolidinedione action specifically in adipocytes. *Biochimie*. 2001 ; 83(10) : 933-43.
 19. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Plasma adiponectin levels in overweight and obese Asians. *Obes Res*. 2002 ; 10(11) : 1104-10.
 20. Kern PA, Di Gregorio GB, Lu T, Rassouli N, Ranganathan G. Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor-alpha expression. *Diabetes*. 2003 ; 52(7) : 1779-85.
 21. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med*. 2001 ; 7(8) : 941-6.
 22. Yonemitsu S, Nishimura H, Shintani M, Inoue R, Yamamoto Y, Masuzaki H, Ogawa Y, Hosoda K, Inoue G, Hayashi T, Nakao K. Troglitazone induces GLUT4 translocation in L6 myotubes. *Diabetes*. 2001 ; 50(5) : 1093-101.
 23. Ciaraldi TP, Gilmore A, Olefsky JM, Goldberg M, Heidenreich KA. In vitro studies on the action of CS-045, a new antidiabetic agent. *Metabolism*. 1990 ; 39(10) : 1056-62.
 24. Yang Z, Strickland DK, Bornstein P. Extracellular matrix metalloproteinase 2 levels are regulated by the low density lipoprotein-related scavenger receptor and thrombospondin 2. *J Biol Chem*. 2001 ; 276(11) : 8403-8.
 25. Cha BS, Ciaraldi TP, Carter L, Nikoulina SE, Mudaliar S, Mukherjee R, Paterniti JR Jr, Henry RR. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma and retinoid X receptor (RXR) agonists have complementary effects on glucose and lipid metabolism in human skeletal muscle. *Diabetologia*. 2001 ; 44(4) : 444-52.
 26. Kausch C, Krutzfeldt J, Witke A, Rettig A, Bachmann O, Rett K, Matthaei S, Machicao F, Haring HU, Stumvoll M. Effects of troglitazone on cellular differentiation, insulin signaling, and glucose metabolism in cultured human skeletal muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001 ; 280(3) : 664-74.