

· 论著 ·

DOI: 10.12464/j.issn.0253-9802.2024-0362

杜仲叶和栀子提取物通过抑制自噬促进白色脂肪细胞褐变

熊绍风¹, 胡智¹, 方洋¹, 赵乐¹, 张洁¹, 郭穆颖², 魏莉², 王昆¹✉

(1. 南昌大学第一附属医院药学部, 江西 南昌 330100; 2. 南昌大学第一附属医院护理部, 江西 南昌 330100)

【摘要】 目的 探究杜仲叶和栀子提取物对白色脂肪细胞褐变的促进作用, 并探究其可能的机制。方法 采用CCK8法、Western blotting法、qRT-PCR法、油红O染色法、BODIPY染色法、线粒体荧光染料检测杜仲叶和栀子提取物对成熟的3T3-L1细胞褐变的影响, 采用自噬激活剂(雷帕霉素)探明其可能的作用机制。结果 研究显示杜仲叶和栀子提取物能够上调褐变相关蛋白及mRNA(PRDM16、PGC-1 α 、UCP-1)的表达(P 均 < 0.05), 抑制自噬相关蛋白(Beclin-1、p62)和mRNA(LC3、Beclin-1、p62)及自噬小体的表达(P 均 < 0.05), 抑制脂滴积累, 增加线粒体丰度。采用自噬激活剂(雷帕霉素)恢复杜仲叶和栀子提取物对3T3-L1细胞自噬水平后(P 均 < 0.05), 发现杜仲叶和栀子提取物对3T3-L1细胞的褐变作用也被自噬激活剂逆转(P 均 < 0.05)。结论 杜仲叶和栀子提取物可能通过抑制自噬进而促进白色脂肪细胞褐变, 其在临床防治肥胖及相关代谢性疾病方面具有潜在作用。

【关键词】 杜仲叶提取物; 栀子提取物; 自噬; 白色脂肪细胞褐变; 肥胖; 脂滴积累

Eucommia ulmoides leaves and *Gardenia* extracts promote white adipocyte browning by inhibiting autophagy

XIONG Shaofeng¹, HU Zhi¹, FANG Yang¹, ZHAO Le¹, ZHANG Jie¹, GUO MUYING², WEI Li², WANG Kun¹✉

(1. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Jiangxi Medical College, Nanchang University, Nanchang 330100, China;

2. Department of Nursing, the First Affiliated Hospital of Jiangxi Medical College, Nanchang University, Nanchang 330100, China)

Corresponding author: WANG Kun, E-mail: 9612266597@qq.com

【Abstract】 **Objective** To investigate whether extracts of *Eucommia ulmoides* leaves and *Gardenia* have the effects on promoting white adipose browning, and to explore their possible mechanisms. **Methods** The effects of *Eucommia ulmoides* leaves and *Gardenia* extracts on mature 3T3-L1 cells were detected using CCK8 assay, Western blotting, qRT-PCR, Oil red O staining, BODIPY staining, and mitochondrial fluorescent dye. Subsequently, autophagy inhibitors (rapamycin) were used to explore their possible mechanisms of action. **Results** *Eucommia ulmoides* leaves and *Gardenia* extracts could upregulate browning-related proteins and mRNAs (PRDM16, PGC-1 α and UCP-1) (all $P < 0.05$), inhibited autophagy-related proteins (Beclin-1 and p62) and mRNAs (LC3, Beclin-1 and p62) and the expression of autophagosomes (all $P < 0.05$), inhibited lipid droplet accumulation, and increased mitochondrial abundance. The use of autophagy activator (rapamycin) restored the autophagy effect of *Eucommia ulmoides* leaf and *Gardenia* extracts on 3T3-L1 cells (all $P < 0.05$), and it was found that the browning effect of *Eucommia ulmoides* leaf and *Gardenia* extracts on 3T3-L1 cells was also reversed by autophagy activator (all $P < 0.05$). **Conclusion** Extracts of *Eucommia ulmoides* leaves and *Gardenia* have the effects upon promoting the browning of white adipocytes by inhibiting autophagy, demonstrating potential clinical applications in the clinical prevention and treatment of obesity and related metabolic diseases.

【Key words】 *Eucommia ulmoides* leaf extract; *Gardenia* extract; Autophagy; Browning of white adipocyte; Obesity; Lipid droplet accumulation

近年来, 人们的物质生活和精神生活均得到了极大丰富, 肥胖问题也日益凸显, 并呈年轻化

收稿日期: 2024-08-30

基金项目: 江西省中医药管理局科技计划重点项目(2020Z016); 2024年江西省医院药学专项研究基金资助项目(2024-ZXYJ01)

作者简介: 熊绍风, 主管药师, 研究方向: 内分泌与代谢药理学, E-mail: 07255@ncu.edu.cn; 王昆, 通信作者, 主管药师, 研究方向: 内分泌与代谢药理学, E-mail: 9612266597@qq.com

的趋势^[1]。肥胖与多种心脑血管疾病的发生密切相关,如糖尿病、高血压、脂肪性肝病、高血脂、动脉粥样硬化等^[2-8]。据报道,约70%的肥胖患者因心血管疾病或2型糖尿病而死亡,给家庭和社会带来沉重的负担^[9]。因此,肥胖已经成为一个亟待解决的全球性公共卫生问题。

脂肪细胞分白色、棕色、米色3种,均源自间充质干细胞。白色脂肪主要功能为储能、保护内脏、保温;棕色与米色通过非颤抖产热燃烧脂肪维持能量平衡,预防肥胖及相关疾病^[10]。寒冷、运动等条件下,白色脂肪可转化为棕色或米色,称为白色脂肪褐变,为肥胖潜在治疗方法^[11]。

自噬是一种适应性生理机制,对促进器官组织发育和维持细胞稳态至关重要。异常的自噬与多种疾病(如衰老、神经退行性疾病、心血管疾病、癌症、肥胖等)相关^[12-20]。研究已证实,自噬不仅与肥胖的发生发展相关,还参与了脂肪细胞的分化^[21]。在肥胖模型中,脂肪组织显示出过度自噬,Atg5和LC3的表达在mRNA和蛋白水平均显著上升,自噬体数量增加,线粒体自噬的过度激活导致线粒体减少,从而抑制白色脂肪褐变的过程,证实自噬在肥胖及其相关病理过程中的负性调控作用^[18]。

杜仲和栀子都是江西的道地药材,因其量多质优和丰富的药理作用,受到广泛关注。杜仲叶提取物具有调脂、调节肠道菌群、抑制细胞凋亡和氧化应激、保护血管内皮等多种生物活性^[22-24]。栀子提取物则可通过调节胆汁酸代谢来改善肝功能^[25]。此外,二者还对糖尿病、肥胖症等代谢性疾病具有潜在的治疗作用。本研究聚焦于杜仲叶和栀子提取物对成熟3T3-L1细胞的影响,探究二者对脂肪褐变、自噬水平、线粒体活力等关键生物学过程的影响,揭示其潜在的作用机制,旨在更全面地了解杜仲叶和栀子提取物在防治肥胖症方面的积极作用,为对抗肥胖症的作用机理提供新的见解,为开发新型抗肥胖药物提供思路。

1 材料与方 法

1.1 细胞株、血清培养基及试剂

采用购自美国菌种保藏中心的3T3-L1前脂肪细胞(CRL-173)作为研究模型,胎牛血清购自浙江天杭生物科技股份有限公司,DMEM培养基购自北京Solarbio,β-Actin鼠多克隆抗体(TA-09)

购自北京中杉金桥生物技术有限公司,PRDM16兔单克隆抗体(ab106410)、UCP-1兔单克隆抗体(ab234430)和PGC-1α兔单克隆抗体(ab106814)购自美国Abcam,SYBR Green(FP201)购自天根生化科技(北京)有限公司,逆转录试剂盒(22107)购自上海Tolobio,TRIzol试剂(15596026)购自美国Invitrogen,实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)引物购自上海吉凯生物有限公司,其他常规的实验消耗试剂均从北京Solarbio采购。

1.2 实验分组

1.2.1 杜仲叶和栀子提取物对3T3-L1细胞活力的影响

将诱导8 d后的3T3-L1细胞均匀接种于96孔培养皿中随机分为6组:对照组、杜仲叶和栀子提取物不同质量浓度组(1+1、10+10、100+100、200+200、400+400,单位均为mg/mL),对照组采用正常培养基培养,杜仲叶和栀子提取物不同浓度组加入含对应杜仲叶和栀子提取物质量浓度的完全培养基,CCK8测定24、48、72 h后的细胞活力。

1.2.2 杜仲叶和栀子提取物对3T3-L1细胞褐变的影响

基于前期实验的结果,选择200 mg/mL杜仲叶提取物+200 mg/mL栀子提取物作为联合实验质量浓度,并设定48 h作为处理时间。将诱导8 d后的3T3-L1均匀接种于培养皿,分为2组:对照组、杜仲叶和栀子提取物(200 mg/mL+200 mg/mL)组,处理细胞48 h后,采用Western blotting法检测褐变相关蛋白表达情况;采用qRT-PCR测定褐变相关mRNA水平。实验重复3次,取均值。

1.2.3 杜仲叶和栀子提取物对3T3-L1细胞脂滴积累和线粒体丰度的影响

将诱导8 d后的3T3-L1均匀接种于培养皿,分为2组:对照组、杜仲叶和栀子提取物(200 mg/mL+200 mg/mL)组,处理细胞48 h后,采用油红O和BODIPY检测脂滴积累情况;采用线粒体染料测定线粒体丰度。实验重复3次,取均值。

1.2.4 杜仲叶和栀子提取物对3T3-L1细胞自噬的影响

将诱导8 d后的3T3-L1均匀接种于培养皿,分为2组:对照组、杜仲叶和栀子提取物(200 mg/mL+200 mg/mL)组,处理细胞48 h后,采用单丹磺酰尸胺(Monodansylcadaverine, MDC)检测自噬

小体情况, Western blotting 法检测自噬相关蛋白表达情况; 采用 qRT-PCR 测定自噬相关 mRNA 水平。实验重复 3 次, 取均值。

1.2.5 自噬激活剂逆转杜仲叶和栀子提取物对 3T3-L1 细胞褐变的作用

将诱导 8 d 后的 3T3-L1 均匀接种于培养皿, 分为 4 组: 对照组 (采用正常培养基培养)、杜仲叶和栀子提取物 (200 mg/mL+200 mg/mL) 组、雷帕霉素 (自噬激活剂) 组、雷帕霉素 + 杜仲叶和栀子提取物 (200 mg/mL+200 mg/mL) 组, 处理细胞 48 h 后, 采用 Western blotting 法检测褐变相关蛋白表达情况; 采用 qRT-PCR 测定褐变相关 mRNA 水平。实验重复 3 次, 取均值。

1.3 方法

1.3.1 qRT-PCR 检测 mRNA 表达情况

PCR 扩增引物均由上海吉凯生物有限公司合成, 引物序列见表 1, 逆转录与 qRT-PCR 操作参照试剂盒说明书进行。

1.3.2 Western blotting 法检测相关蛋白表达情况

不同处理组的细胞中加入细胞裂解液 [蛋白裂解液 (radioimmunoprecipitation assay, RIPA): 苯甲基磺酰氟 (phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF) =100:1] 后置于冰上裂解 15 min, 测定蛋白浓度, 根据定量结果进行制样, 将上样缓冲溶液加入细胞裂解液中并煮沸 10 min, 随后采用 12% 的 SDS-PAGE 电泳分离, 湿转到聚偏二氟乙烯膜材料 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上, 湿转完成后使用 8% 脱脂牛奶封闭 1.5 h, 加一抗 4 ℃ 孵育过夜, TBST 洗膜 5 遍, 二抗 4 ℃ 孵育过夜, TBST 洗膜 5 遍后用 ECL 化学发光法进行检测。

1.3.3 油红 O 染色检测脂滴积累情况

将处理好的细胞用磷酸盐缓冲液 (phosphate-buffered saline, PBS) 清洗 2 遍, 加入 10% 多聚甲醛固定 20 min, PBS 清洗 2 遍, 加入油红 O 染料,

37 ℃ 恒温箱染色 30 min; 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS) 清洗 2 遍, 置于倒置显微镜下观察其染色情况, 拍照记录。此外, 用无水异丙醇洗脱细胞内的染料以进行定量, 通过紫外分光光度计测量 510 nm 处的吸光度值 (A), 记录数据。

1.3.4 BODIPY 荧光染料检测脂滴积累情况

将处理好的细胞用 PBS 清洗 2 遍, 加入 BODIPY 荧光染料染色 10 min, 置于激光共聚焦扫描显微镜观察其染色情况, 拍照记录。

1.3.5 线粒体荧光染料检测细胞线粒体丰度

将处理好的细胞用 PBS 清洗 2 遍, 加入线粒体荧光染料染色 15 min, 置于激光共聚焦扫描显微镜下观察其染色情况, 拍照记录。

1.3.6 MDC 染色检测自噬小体

将处理好的细胞用 PBS 清洗 2 遍, 加入 MDC 染料染色 15 min, 置于激光共聚焦扫描显微镜下观察其染色情况, 拍照记录。

1.3.7 鸡尾酒诱导法

首先采用含 10% 胎牛血清的高糖培养基进行 3T3-L1 前脂肪细胞的培养, 然后采用鸡尾酒诱导法进行诱导^[16]。先用分化培养基 I (含 50 nmol/L 甲状腺三碘原氨酸、1 μmol/L 地塞米松、10 μg/mL 胰岛素和 0.5 mmol/L 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤的完全培养基) 诱导 2 d, 然后用分化培养基 II (含 1 μmol/L 罗格列酮、50 nmol/L 甲状腺三碘原氨酸和 10 μg/mL 胰岛素的完全培养基) 诱导细胞 4 d, 然后用分化培养基 III (含 10 μmol/L 罗格列酮的完全培养基) 诱导 2 d。

1.4 统计学方法

实验重复 3 次, 取均值。采用 GraphPad Prism 5.0 进行分析, 数据符合正态分布, 采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD- t 检验。以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequence

引物	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')
GAPDH	GTGTTTCCTCGTCCCGTAGA	CCTTGACTGTGCCGTTGAAT
UCP-1	GGGAGAGGTGGGAGTGTATG	GCTGTGAACTGTGGTCAATAAA
PGC-1 α	GCAGCGGTCTTAGCACTCA	GAGGAGGGTCATCGTTTGTG
PRDM16	GATTGCGAGCGGATGTTT	ATGCTGTGAGCGGATGTGA
LC3II / I	GAAGATGTCCGATCTATTGAGAG	ACTCTCATACCTCTGAGATTGG
Beclin-1	ATCCTGGACCGTGTCAACATCCA	GTTGAGCTGAGTGTCCAGCTGG
p62	GCACCCCAATGTGATCTGC	CGCTACACAAGTCGTAGTCTG

2 结果

2.1 杜仲叶和栀子提取物对 3T3-L1 细胞活力的影响

CCK8 结果显示：无论是哪个加药时间，随着加药浓度的上升，细胞存活率均呈下降趋势。当加药时间为 24 h 和 48 h 时，杜仲叶和栀子提取物浓度为 400 mg/mL+400 mg/mL 时呈现明显毒性，与对照组比较，差异具有统计学意义（均 $P < 0.05$ ）；当加药时间为 72 h 时，杜仲叶和栀子提取物浓度为 100 mg/mL+100 mg/mL 就呈现明显毒性，与对照组比较，差异具有统计学意义（均 $P < 0.05$ ），见

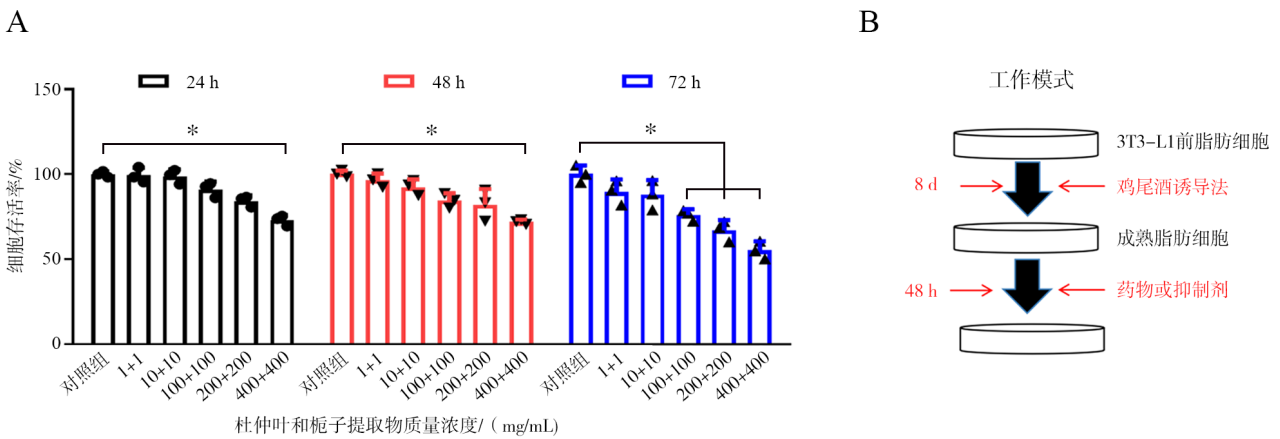
图 1A。最终选择 200 mg/mL+200 mg/mL、48 h 作为后续的实验浓度及时间。实验工作模式如图 1B。

2.2 杜仲叶和栀子提取物对脂肪细胞褐变的影响

经 200 mg/mL 杜仲叶 +200 mg/mL 栀子提取物处理成熟 3T3-L1 细胞 48 h 后，褐变相关蛋白和 mRNA 表达水平升高（均 $P < 0.05$ ），见图 2。

2.3 杜仲叶和栀子提取物对脂肪细胞脂滴积累和线粒体丰度的影响

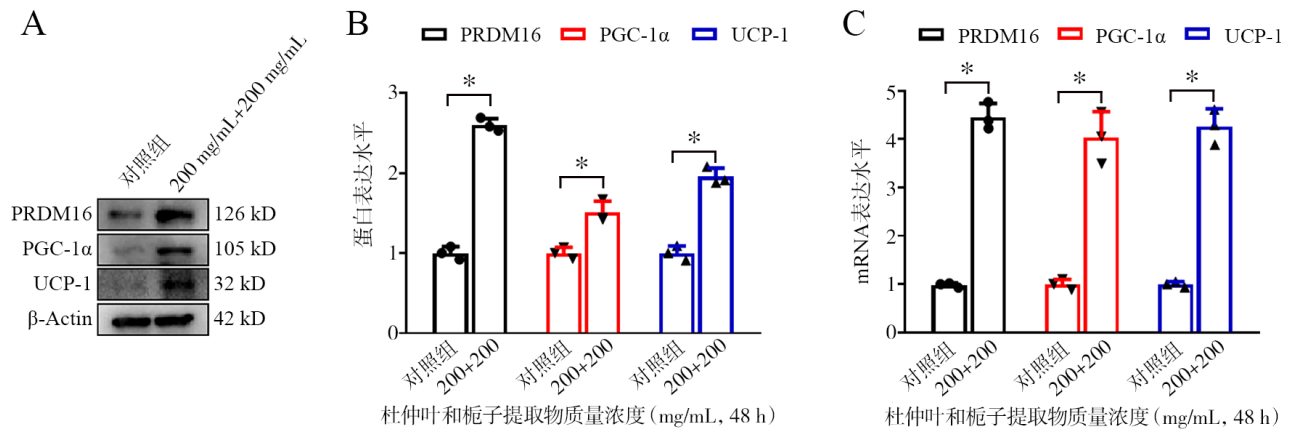
经 200 mg/mL 杜仲叶 +200 mg/mL 栀子提取物处理成熟 3T3-L1 细胞 48 h 后，细胞脂滴减少，线粒体增多（均 $P < 0.05$ ），见图 3。



注：A 为 CCK8 检测杜仲叶和栀子提取物处理细胞 24、48、72 h 后细胞的存活率；B 为工作模式图；组间比较， $P < 0.05$ 。

图 1 杜仲叶和栀子提取物对 3T3-L1 细胞活力的影响

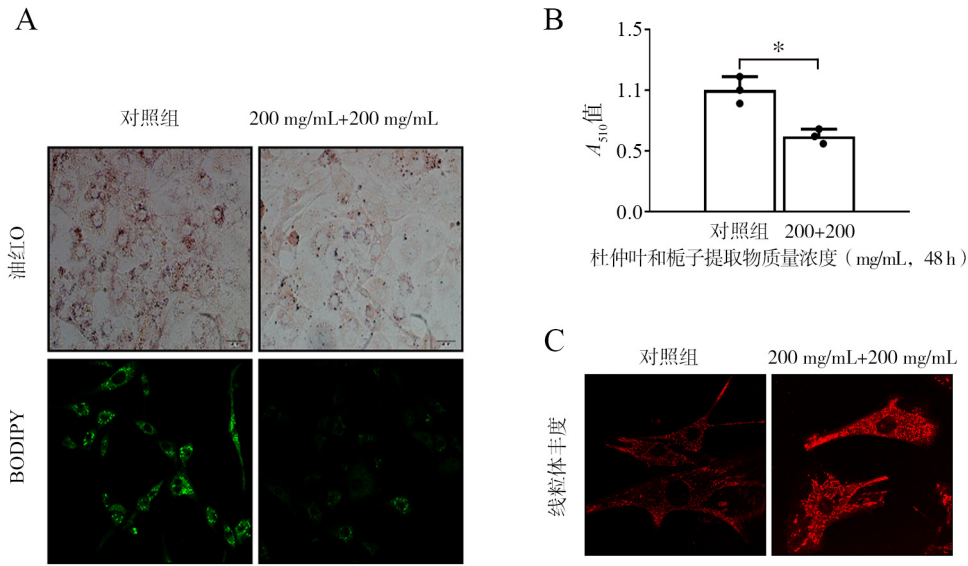
Figure 1 Effect of *Eucommia ulmoides* leaves and *Gardenia* extracts on 3T3-L1 cell activity



注：A 为采用 Western blotting 检测褐变相关蛋白的表达情况；B 为对 Western blotting 结果进行定量分析；C 为采用 qRT-PCR 检测褐变相关基因 mRNA 表达情况；与对照组比较， $P < 0.05$ 。

图 2 杜仲叶和栀子提取物对脂肪细胞褐变的影响

Figure 2 Effects of *Eucommia ulmoides* leaves and *Gardenia* extracts on browning of adipocytes



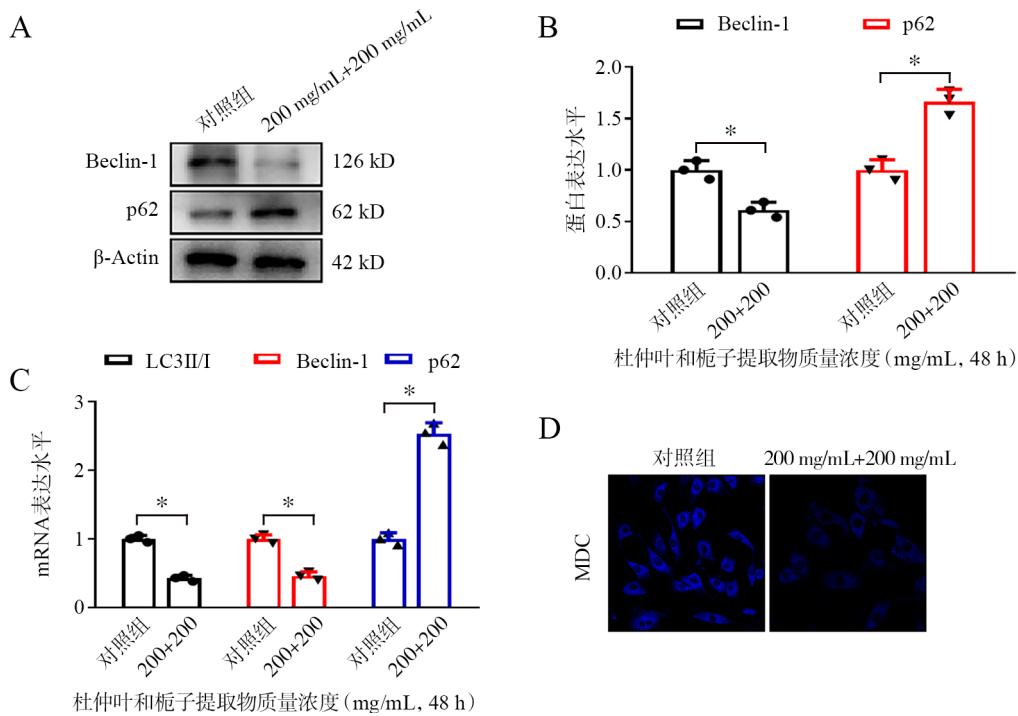
注: A 为油红 O 和 BODIPY 检测脂滴积累情况, 标尺为 20 μm; B 为酶标仪检测 A₅₁₀ 值; C 为线粒体荧光染料检测线粒体丰度; 与对照组比较, *P < 0.05。

图 3 杜仲叶和栀子提取物对脂肪细胞脂滴积累和线粒体丰度的影响

Figure 3 Effects of *Eucommia ulmoides* leaves and *Gardenia* extracts on lipid droplet accumulation and mitochondrial abundance of adipocytes

2.4 杜仲叶和栀子提取物对脂肪细胞自噬的影响

处理成熟 3T3-L1 细胞 48 h 后, 自噬水平降低, 自噬小体减少 (均 P < 0.05), 见图 4。



注: A 为采用 Western blotting 检测自噬相关蛋白的表达情况; B 为对 Western blotting 结果进行定量分析; C 为采用 qRT-PCR 检测自噬相关基因 mRNA 表达情况; D 为采用 MDC 法检测自噬小体; 与对照组比较, *P < 0.05。

图 4 杜仲叶和栀子提取物对脂肪细胞自噬的影响

Figure 4 Effects of *Eucommia ulmoides* leaves and *Gardenia* extracts on autophagy of adipocytes

2.5 自噬激活剂逆转杜仲叶和栀子提取物对脂肪细胞褐变的作用

自噬激活剂会逆转杜仲叶和栀子提取物对脂肪细胞褐变的作用,见图5。

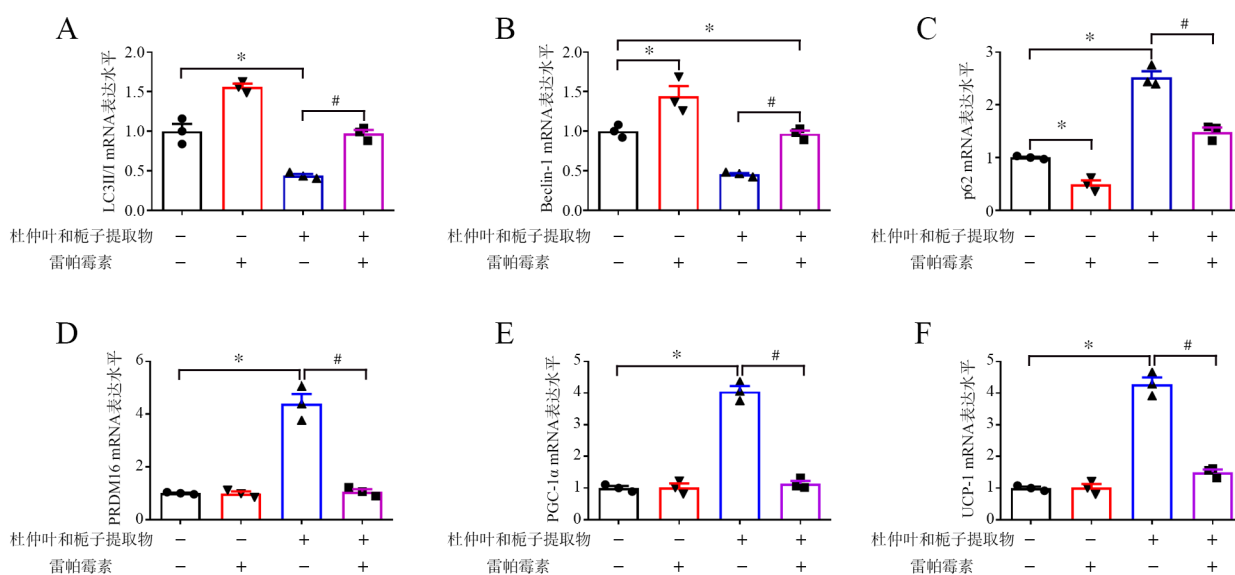
3 讨论

随着现代社会生活方式的转变,长期能量摄入超过消耗已成为肥胖症的主要诱因。近年来,肥胖人数的激增及其年轻化、儿童化的趋势,已引起全球范围的广泛关注。更为严重的是,长期肥胖与多种代谢性疾病如糖尿病、高血压、脂肪肝等密切相关,使其成为一个亟待解决的全球性公共卫生问题^[1]。鉴于肥胖主要由能量代谢失衡(即摄入量大于消耗量)引发,目前临床上防治肥胖的主要策略集中在控制能量摄入和(或)增加能量消耗上。这些方法包括节食、增加运动量、肥胖外科手术以及药物治疗等。然而,这些方法均有一定的局限性,如生活质量降低、难以长期坚持、肥胖反弹以及药物不良反应等^[9]。近年来,研究者们对肥胖症的防治机制进行了深入的探索。有报道指出,相较于正常人群,肥胖患者的自噬水平异常升高,而机体白色脂肪细胞的褐变水平较低^[26]。研究已证实,促进脂肪细胞褐变在防治

肥胖症方面展现出积极有效的潜力。因此,与细胞褐变相关的靶点已成为当前防治肥胖症研究的热点之一。通过深入研究这些靶点,有望为肥胖症的防治提供新的思路和方法^[18]。

本研究着重探讨了杜仲叶和栀子提取物在促进白色脂肪细胞褐变、防治肥胖及其相关代谢综合征方面的潜在作用。实验结果显示,随着杜仲叶和栀子提取物浓度的增加,褐变标志性蛋白 PRDM16 表达水平均呈现逐渐上升的趋势,这表明这 2 种提取物具有促进白色脂肪细胞棕色化的能力,且杜仲叶和栀子提取物的联合使用比单剂量使用杜仲叶或栀子提取物时棕色化标志蛋白 PRDM16 表达量要多,提示杜仲叶和栀子提取物联合给药会产生协同效果。油红 O 染色和 BODIPY 荧光染色实验显示,杜仲叶和栀子提取物能够有效抑制白色脂肪细胞中脂滴的积累。同时,线粒体荧光染色结果表明,2 种提取物能够显著增加线粒体的丰度,进一步支持了它们促进脂肪细胞褐变的作用。

在探讨杜仲叶和栀子提取物对细胞自噬的影响时,本研究显示自噬相关蛋白 Beclin-1 和 LC3 II / I 的 mRNA 表达量降低,而 p62 蛋白和 mRNA 表达量明显升高,这表明 2 种提取物能够抑制细胞自噬的发生。此外, MDC 染色结果也进一步证实了



注: A、B、C 为 qRT-PCR 检测自噬相关基因 mRNA 表达情况; D、E、F 为 qRT-PCR 检测褐变相关基因 mRNA 表达情况; 与对照组比较, * 为 $P < 0.05$; 与 200 mg/mL 杜仲叶 + 200 mg/mL 栀子提取物组比较, # 为 $P < 0.05$ 。

图5 自噬激活剂逆转杜仲叶和栀子提取物对脂肪细胞褐变的作用

Figure 5 Autophagy activator reversed the effect of *Eucommia ulmoides* leaves and *Gardenia* extracts on browning of adipocytes

杜仲叶和栀子提取物能够抑制自噬小体的生成。为了更深入地探究自噬在杜仲叶和栀子提取物促进白色脂肪细胞褐变过程中的作用,采用自噬激活剂来逆转这2种提取物的自噬抑制作用。结果显示,当自噬被激活后,杜仲叶和栀子提取物的促褐变作用也随之被逆转。这一发现表明,杜仲叶和栀子提取物的促褐变作用与其抑制自噬的能力密切相关。

综上所述,本研究不仅揭示了杜仲叶和栀子提取物在促进白色脂肪细胞褐变、防治肥胖及其相关代谢综合征方面的潜在作用,还深入探讨了其背后的作用机制,尤其是与细胞自噬的关系。虽然本研究仅限于细胞水平,但这些发现仍为进一步开发基于杜仲叶和栀子提取物的抗肥胖药物提供了新的思路和实验基础。未来在动物模型中的研究将有助于进一步验证其效果,并为临床应用奠定基础。

利益冲突声明: 本研究未受到企业、公司等第三方资助,不存在潜在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 赖智晟, 欧建平. 肥胖对育龄女性生育能力影响的研究进展 [J]. 新医学, 2020, 51 (7): 501-505. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2020.07.003.
LAI Z S, OU J P. Research progress on the impact of obesity on female fertility [J]. J New Med, 2020, 51 (7): 501-505. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2020.07.003.
- [2] ARTASENSI A, MAZZOLARI A, PEDRETTI A, et al. Obesity and type 2 diabetes: adiposopathy as a triggering factor and therapeutic options [J]. Molecules, 2023, 28 (7): 3094. DOI: 10.3390/molecules28073094.
- [3] DO T, VAN A, ATAEI A, et al. Microvascular dysfunction in obesity-hypertension [J]. Curr Hypertens Rep, 2023, 25 (12): 447-453. DOI: 10.1007/s11906-023-01272-2.
- [4] CHEN Y, WANG W, MORGAN M P, et al. Obesity, non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: current status and therapeutic targets [J]. Front Endocrinol, 2023, 14: 1148934. DOI: 10.3389/fendo.2023.1148934.
- [5] BLÜHER M, ARAS M, ARONNE L J, et al. New insights into the treatment of obesity [J]. Diabetes Obes Metab, 2023, 25 (8): 2058-2072. DOI: 10.1111/dom.15077.
- [6] KOSMAS C E, BOUSVAROU M D, KOSTARA C E, et al. Insulin resistance and cardiovascular disease [J]. J Int Med Res, 2023, 51 (3): 3000605231164548. DOI: 10.1177/03000605231164548.
- [7] ENNAB F, ATIOMO W. Obesity and female infertility [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2023, 89: 102336. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2023.102336.
- [8] JURDANA M, CEMAZAR M. Sarcopenic obesity in cancer [J]. Radiol Oncol, 2024, 58 (1): 1-8. DOI: 10.2478/raon-2024-0011.
- [9] WYSZOMIRSKI K, WAŁĘDZIAK M, RÓŻAŃSKA-WAŁĘDZIAK A. Obesity, bariatric surgery and obstructive sleep apnea—a narrative literature review [J]. Medicina, 2023, 59 (7): 1266. DOI: 10.3390/medicina59071266.
- [10] SCHIRINZI V, POLI C, BERTEOTTI C, et al. Browning of adipocytes: a potential therapeutic approach to obesity [J]. Nutrients, 2023, 15 (9): 2229. DOI: 10.3390/nu15092229.
- [11] DONG H, QIN M, WANG P, et al. Regulatory effects and mechanisms of exercise on activation of brown adipose tissue (BAT) and browning of white adipose tissue (WAT) [J]. Adipocyte, 2023, 12 (1): 2266147. DOI: 10.1080/21623945.2023.2266147.
- [12] XIAO F, JIANG H, LI Z, et al. Reduced hepatic bradykinin degradation accounts for cold-induced BAT thermogenesis and WAT browning in male mice [J]. Nat Commun, 2023, 14 (1): 2523. DOI: 10.1038/s41467-023-38141-0.
- [13] YAMAMOTO H, ZHANG S, MIZUSHIMA N. Autophagy genes in biology and disease [J]. Nat Rev Genet, 2023, 24 (6): 382-400. DOI: 10.1038/s41576-022-00562-w.
- [14] MICELI C, LERI M, STEFANI M, et al. Autophagy-related proteins: potential diagnostic and prognostic biomarkers of aging-related diseases [J]. Ageing Res Rev, 2023, 89: 101967. DOI: 10.1016/j.arr.2023.101967.
- [15] FESTA B P, SIDDIQI F H, JIMENEZ-SANCHEZ M, et al. Microglial-to-neuronal CCR5 signaling regulates autophagy in neurodegeneration [J]. Neuron, 2023, 111 (13): 2021-2037. e12. DOI: 10.1016/j.neuron.2023.04.006.
- [16] RABINOVICH-NIKITIN I, KIRSHENBAUM E, KIRSHENBAUM L A. Autophagy, clock genes, and cardiovascular disease [J]. Can J Cardiol, 2023, 39 (12): 1772-1780. DOI: 10.1016/j.cjca.2023.08.022.
- [17] DEBNATH J, GAMMOH N, RYAN K M. Autophagy and autophagy-related pathways in cancer [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24 (8): 560-575. DOI: 10.1038/s41580-023-00585-z.
- [18] XIONG S, YU S, WANG K, et al. Dietary apigenin relieves body weight and glycolipid metabolic disturbance via pro-browning of white adipose mediated by autophagy inhibition [J]. Mol Nutr Food Res, 2023, 67 (18): e2200763. DOI: 10.1002/mnfr.202200763.
- [19] ZHAO X, BIE L Y, PANG D R, et al. The role of autophagy in the treatment of type II diabetes and its complications: a review [J]. Front Endocrinol, 2023, 14: 1228045. DOI: 10.3389/fendo.2023.1228045.
- [20] SEHRAWAT A, MISHRA J, MASTANA S S, et al. Dysregulated autophagy: a key player in the pathophysiology of type 2 diabetes and its complications [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2023, 1869 (4): 166666. DOI: 10.1016/j.

- bbadis.2023.166666.
- [21] FENG P, PANG P, SUN Z, et al. Enhancer-mediated FOXO3 expression promotes MSC adipogenic differentiation by activating autophagy [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870 (2): 166975. DOI: 10.1016/j.bbadis.2023.166975.
- [22] 余成馨, 王海帆, 王鹏, 等. 杜仲叶提取物对高脂血症模型大鼠降脂作用及肠道菌群影响研究 [J]. *中药药理与临床*, 2023, 39 (9): 55-61. DOI: 10.13412/j.cnki.zyy.20230615.007. YU C X, WANG H F, WANG P, et al. Lipid-lowering effect of EUCOMMIAE FOLIUM extract on hyperlipidemia model rats and its influence on intestinal flora [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2023, 39 (9): 55-61. DOI: 10.13412/j.cnki.zyy.20230615.007.
- [23] 陈梦宇, 杜杰, 肖聘. 杜仲叶提取物通过上调 miR-140-5p 减轻缺血/再灌注引起的神经细胞损伤 [J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43 (7): 1735-1739. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2023.07.051. CHEN M Y, DU J, XIAO C. *Eucommia ulmoides* leaf extract attenuates ischaemia/reperfusion-induced neuronal cell injury by up-regulating miR-140-5p [J]. *Chin J Gerontol*, 2023, 43 (7): 1735-1739. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2023.07.051.
- [24] 李辉, 李攀峰, 杨婷, 等. 杜仲叶提取物对 SHR 大鼠血管内皮损伤的保护作用 [J]. *河南大学学报 (医学版)*, 2022, 41 (5): 321-326. DOI: 10.1599/j.cnki.41-136/r.2022.05.010. LI H, LI P F, YANG T, et al. Effects of *Eucommia ulmoides* leaves extract on blood pressure and vascular endothelial function in essential hypertensive rats [J]. *J Henan Univ Med Sci*, 2022, 41 (5): 321-326. DOI: 10.1599/j.cnki.41-136/r.2022.05.010.
- [25] 秦莎莎. 栀子提取物改善胆汁淤积性肝损伤的作用机制研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2023. DOI: 10.27658/d.cnki.gzzyy.2023.000013. QIN S S. Study on the mechanism of ameliorated cholestatic liver injury in used Gardenia extract [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2023. DOI: 10.27658/d.cnki.gzzyy.2023.000013.
- [26] YIN X, XU Z, ZHANG X, et al. Deficiency of lipopolysaccharide binding protein facilitates adipose browning, glucose uptake and oxygen consumption in mouse embryonic fibroblasts via activating PI3K/Akt/mTOR pathway and inhibiting autophagy [J]. *Cell Cycle*, 2023, 22 (8): 967-985. DOI: 10.1080/15384101.2023.2169521.

(责任编辑: 郑巧兰)

