

# 山茱萸环烯醚萜苷类提取物对 3T3-L1 脂肪细胞线粒体氧消耗及相关基因表达的影响

赵丹丹, 李小可, 于娜, 穆倩倩, 张毅, 方心, 莫芳芳, 高思华\*  
(北京中医药大学 糖尿病研究中心, 北京 100029)

**[摘要]** 目的:观察山茱萸环烯醚萜苷类提取物对小鼠胚胎成纤维细胞(3T3-L1)成熟脂肪细胞有氧呼吸氧消耗速率及相关基因表达的影响,分析可能分子机制。方法:以 3T3-L1 脂肪细胞为研究对象,Seahorse 细胞外流量分析方法测定 0.04, 0.2, 1 g·L<sup>-1</sup>质量浓度山茱萸提取物干预 2 d 后对脂肪细胞氧消耗速率的影响,另设空白组。逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测干预 2 d 后脂肪细胞过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$  辅激活子-1 $\alpha$ (PGC-1 $\alpha$ ),沉默信息调节因子 2 相关酶 1(SIRT1),腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK),线粒体脱偶连蛋白 1 抗体(UCP-1),PR 结构域的蛋白 16(PRDM16)和过氧化物酶体增殖物活化受体  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ ) mRNA 表达水平。结果:与空白组比较,0.2, 1 g·L<sup>-1</sup>山茱萸提取物干预成熟脂肪细胞 2 d 后可增加 ATP 生成、基础呼吸和最大呼吸能力,1 g·L<sup>-1</sup>提取物可使储备呼吸能力增强,0.04 g·L<sup>-1</sup>提取物则使质子漏氧消耗速率明显升高;各质量浓度提取物干预 2 d 不同程度明显上调 PGC-1 $\alpha$ , AMPK, SIRT1 mRNA 水平,明显下调 PPAR $\gamma$  mRNA 表达,均具有明显统计学差异( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),对 UCP-1, PRDM16 基因表达没有明显影响。结论:山茱萸环烯醚萜总苷对成熟脂肪细胞有氧呼吸具有促进作用,增加 ATP 生成,细胞不具备米色化特征,其作用可能与 AMPK, SIRT1, PGC-1 $\alpha$ , PPAR $\gamma$  多个因子的调节相关。

**[关键词]** 山茱萸提取物; 环烯醚萜苷; 成熟脂肪细胞; 氧消耗速率; 质子漏

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)11-0122-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016110122

## Effects of Iridoid Glycoside Extract from Corni Fructus Extract on Mitochondrial Oxygen Consumption and Related Genes Expression in 3T3-L1 Mature Adipocytes

ZHAO Dan-dan, LI Xiao-ke, YU Na, MU Qian-qian, ZHANG Yi,  
FANG Xin, MO Fang-fang, GAO Si-hua\*

(Diabetes Research Center, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effects of iridoid glycoside extract from Corni Fructus (ECF) on mitochondrial oxygen consumption and related genes expression in 3T3-L1 mature adipocytes, and analyze the possible molecular mechanism. **Method:** With 3T3-L1 adipocytes as the study objects, Seahorse XF Cell Mito Stress Test was used to detect the effect of ECF (at the concentrations of 0.04, 0.2, 1 g·L<sup>-1</sup>) for 2 d on the oxygen consumption rate in adipocytes, and blank group was additionally set up. Peroxisome proliferators-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ), silent information regulator 2 related enzyme 1 (SIRT1), adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK), mitochondrial uncoupling protein 1 antibodies (UCP-1), PR domain proteins 16 (PRDM16) and peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) mRNA expressions were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Result:** As compared with the blank group, 2 days' intervention of 0.2, 1 g·L<sup>-1</sup> ECF in mature 3T3-L1 adipocytes enhanced ATP production, basal

**[收稿日期]** 20150805(009)

**[基金项目]** 国家国际科技合作项目(2011DFA30920);国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09103201-005)

**[第一作者]** 赵丹丹,博士,助理研究员,从事内分泌代谢病临床与基础研究, Tel:010-64286556, E-mail:bucmzhaodandan@163.com

**[通讯作者]** \*高思华,教授,博士生导师,从事内分泌代谢病临床与基础研究, Tel:010-64286556, E-mail:gaosihual216@163.com

respiration and maximal respiration;  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ECF intervention enhanced the spare respiration capacity;  $0.04 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ECF significantly increased the oxygen consumption rate of proton leak. ECF intervention for 2 days at various concentrations significantly up-regulated PGC-1 $\alpha$ , AMPK and SIRT1 mRNA levels, and significantly down-regulated PPAR $\gamma$  mRNA expression level, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), but they showed no significant effects on UCP-1 and PRDM16 mRNA expression levels. **Conclusion:** In mature adipocytes, ECO could enhance the aerobic respiration and increase ATP production, and the adipocytes have no beiging characteristics, so these effects might be related to regulations of AMPK, SIRT1, PGC-1 $\alpha$  and PPAR $\gamma$  levels.

[**Key words**] extract from Corni Fructus; iridoid glycoside; mature adipocyte; oxygen consumption rate; proton leak

肥胖, 2 型糖尿病和代谢综合征等营养代谢性疾病目前已成为世界范围内严重的健康问题<sup>[1]</sup>。脂肪组织是参与机体能量代谢的重要外周组织, 不仅能储存脂肪, 也能通过脂肪分解产生脂肪酸释放入血, 还能够分泌多种细胞因子以调节各外周组织对胰岛素的敏感性。体外筛选实验显示山茱萸粗提取物可以抑制 3T3-L1 脂肪细胞的脂滴形成<sup>[2]</sup>, 且含量最高的特征性物质环烯醚萜苷类促进原代培养大鼠前脂肪细胞的增殖, 并抑制其分化<sup>[3-5]</sup>。前期研究显示, 山茱萸环烯醚萜苷类提取物可以增加 3T3-L1 成熟脂肪细胞的葡萄糖消耗, 抑制异丙肾上腺素诱导的脂肪分解, 且其作用可能与上调腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 基因表达有关。在此基础上, 本研究将进一步观察山茱萸环烯醚萜苷类提取物对 3T3-L1 成熟脂肪细胞有氧呼吸氧消耗速率及部分线粒体生物合成和解耦联相关基因的影响, 从分子水平探析其调节脂肪细胞能量代谢的可能机制。

## 1 材料

**1.1 细胞株** 3T3-L1 小鼠胚胎成纤维细胞株购自中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心。

**1.2 药物及试剂** 山茱萸药材购自北京同仁堂制药集团, 北京中医药大学中药学院中药科技发展部尹兴斌助理研究员鉴定为山茱萸科植物山茱萸干燥成熟果肉。细胞培养试剂胎牛血清 (FBS, 杭州四季青生物工程材料有限公司, 批号 140403), DMEM 培养基、胰蛋白酶和谷氨酰胺 (美国 Gibco 公司, 批号分别为 1621400, 1234955, 1188801), 青/链霉素 (吉诺生物医药及生物有限公司, 批号 14051202), 胰岛素、地塞米松 (Dex) 和 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤 (IBMX) (美国 Sigma 公司, 批号分别为 20120503, BCBK5387V, 1416651), 葡萄糖和丙酮酸钠 (国药集团化学试剂有限公司, 批号分别为 20111216, 20120904), XF 细胞线粒体压力测试试剂盒 (批号 14261900), XF 基本培养液 (批号 98546001), XF 校

准液 (批号 71), XF 细胞培养微模块等均购自 Seahorse Bioscience 公司; RNA 抽提试剂 TriPure (瑞士 Roche 公司, 批号 93977120), 逆转录试剂盒 (美国 Thermo 公司, 批号 00235259), Power SYBR Green PCR Master Mix (美国 ABI 公司, 批号 1410475)。

**1.3 仪器** XFe24 型细胞外流量分析仪 (美国 Seahorse Bioscience 公司), Arktik 型热循环仪 (美国 Thermo 公司), Prism 7500 型荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司)。

## 2 方法

**2.1 山茱萸环烯醚萜总苷提取物 (ECF) 制备** 按照前期研究选定的山茱萸环烯醚萜总苷提取物优化醇提方法制备, 称取山茱萸药材 100 g, 6 倍体积以 80% 乙醇提取 2 次, 每次 1 h, 提取液浓缩水沉, 上清液加水定容至  $0.5 \text{ g} \cdot \text{mL}$ , 然后上大孔树脂分离纯化, 上样后以 30% 乙醇 12 倍体积洗脱, 洗脱液浓缩减压干燥得到环烯醚萜总苷提取物, 样品保存于北京中医药大学糖尿病研究中心实验室。用前称取提取物 20.0 mg, 20 mL DMEM 溶解,  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜过滤, 用 DMEM 逐级稀释, 最终得到质量浓度为 1, 0.2, 0.04  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的提取物溶液。

**2.2 脂肪细胞培养与分化** 3T3-L1 前脂肪细胞以 10% FBS DMEM 培养液  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  培养, 铺板后继续培养, 待细胞融合 2 d, 加入含  $850 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  胰岛素,  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Dex 和  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  IBMX 的 10% FBS DMEM 培养 2 d, 换含  $850 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  胰岛素的 10% FBS DMEM 培养, 每 2 d 换液 1 次, 6~8 d 后细胞即可完全分化成熟。

**2.3 细胞呼吸 Seahorse 检测** 在 XF 细胞培养微模块中接种 3T3-L1 前脂肪细胞培养、分化成熟, 按照 DMEM (空白) 和 0.04, 0.2,  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  质量浓度 ECF 分 4 组干预 2 d, 每组设置 5 个复孔。检测探针校准液水化 24 h。配置含有  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  谷氨酰胺,  $11 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  葡萄糖,  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  丙酮酸钠的检测培

培养基, 37 °C pH 校准至 7.4。解藕联氧消耗速率注射终浓度 0.5 μmol·L<sup>-1</sup> 的寡霉素, 最大氧消耗速率注射终浓度为 0.9 μmol·L<sup>-1</sup> 的羰基-氰-对-三氟甲氧基苯肼 (FCCP), 抗霉素 A 和鱼藤酮注射终浓度均为 0.5 μmol·L<sup>-1</sup> 以抑制复合物 III 和复合物 I 依赖的细胞呼吸。首先测定细胞呼吸基础状态, 然后依次注射寡霉素, FCCP, 抗霉素 A 和鱼藤酮, 最后注射空白检测培养基。结果按 DNA 浓度标准化, 按照曲线下面积分别计算基础呼吸, ATP 生成, 质子漏 (解藕联), 最大呼吸与储备呼吸能力。

**2.4 逆转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR) 检测** 分化成熟的细胞加入不同浓度 ECF 干预 2 d, 每组设置 4 个复孔, 使用 Tripure 试剂抽提总 RNA 并定量, 取总 RNA 1 μg 使用 Oligo (dT) 引物逆转录成第一链 cDNA。PCR 扩增引物脂肪细胞过氧化物酶体增殖物激活受体-γ 辅激活子-1α (PGC-1α), 沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (SIRT1), 腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK), 线粒体脱偶连蛋白 1 抗体 (UCP-1), PR 结构域的蛋白 16 (PRDM16) 和过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (PPARγ) (表 1) 由上海生工公司合成。实时荧光定量使用 ABI 公司 PCR Power SYBR Green PCR Master Mix, 反应体系 20 μL, 进行 40 个循环 (95 °C 15 s, 60 °C 31 s, 72 °C 30 s)。以 ARBP 为内参进行标准化, 结果以相对 mRNA 水平表示 (2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup> 法)。

表 1 RT-PCR 引物序列

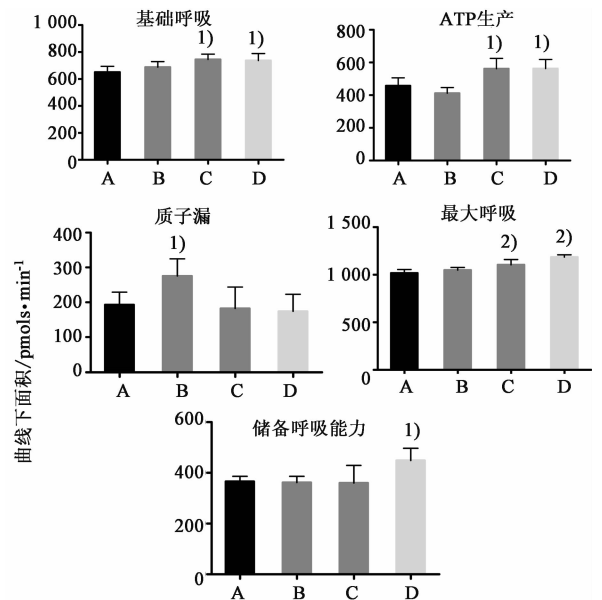
Table 1 Primer sequence of RT-PCR

基因	5'-引物序列-3'
PGC-1α	上游 CCCTGCCATTGTTAAGACC
	下游 TGCTGCTGTTCTGCTCCT
SIRT-1	上游 GCAACAGCATCTTGCCCTGAT
	下游 GTGCTACTGGTCTACAAG
AMPK	上游 AAACCCACAGAAATCCAAACA
	下游 CCTTCCATTCATAGTCAGCGA
UCP-1	上游 GGGCCCTTGTAACAACAAA
	下游 GTCGGTCTTCCTTGCACTT
PRDM16	上游 GACATTCCAATCCCACCAGA
	下游 CACCTCTGTATCCGTGTGTA
PPARγ	上游 TCAGTCTGTGGACCTCTCC
	下游 ACCCTTGCATCCTTCCAGCA
ARBP	上游 TTTGGGCATCACCACGAAAA
	下游 GGACACCCTCCAGAATTTTC

**2.5 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 软件对实验数据进行统计分析, 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组比较采用单因素方差分析进行组间数据分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对 3T3-L1 脂肪细胞有氧呼吸氧消耗速率的影响** 与空白组比较, 0.2, 1 g·L<sup>-1</sup> ECF 分别使 3T3-L1 成熟脂肪细胞的 ATP 生成提升 22.67% 和 23.04% ( $P < 0.05$ ), 基础呼吸能力提升 14.31% 和 13.25% ( $P < 0.05$ ), 分别使细胞最大呼吸能力增强 8.60% 和 16.63% ( $P < 0.01$ )。1 g·L<sup>-1</sup> ECF 使细胞储备呼吸能力了 22.63% ( $P < 0.05$ )。0.04 g·L<sup>-1</sup> 提取物使细胞质子漏氧消耗速率提高了 42.58% ( $P < 0.05$ )。见图 1。



A. 空白组; B. ECF 0.04 g·L<sup>-1</sup> 组; C. ECF 0.2 g·L<sup>-1</sup> 组; D. ECF 1 g·L<sup>-1</sup> 组; 与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (图 2, 3 同)

图 1 ECF 对 3T3-L1 脂肪细胞有氧呼吸氧消耗速率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )

Fig. 1 Effects of ECF on mitochondrial oxygen consumption in 3T3-L1 mature adipocytes ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )

**3.2 对线粒体生物合成关键基因 PGC-1α 及其相关基因 SIRT-1, AMPK 表达的影响** 在 3T3-L1 脂肪细胞分化成熟后加入 0.04, 1 g·L<sup>-1</sup> 质量浓度的 ECF 上调了 PGC-1α 的基因表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 0.2, 1 g·L<sup>-1</sup> 质量浓度的 ECF 使 SIRT-1 mRNA 水平上调 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 0.04, 0.2, 1 g·L<sup>-1</sup> 3 个质量浓度的 ECF 均可不同程度地上调 AMPK 的 mRNA 表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。见图 2。

**3.3 对线粒体解藕联相关基因 UCP-1, PRDM16,**

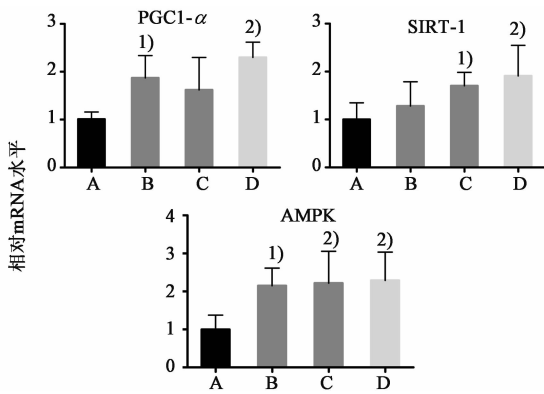


图 2 ECF 对 3T3-L1 脂肪细胞 PGC-1 $\alpha$ , SIRT-1, AMPK mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Fig. 2 Effects of ECF on mRNA expression of PGC-1 $\alpha$ , SIRT-1, AMPK in 3T3-L1 mature adipocytes ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

PPAR $\gamma$  表达的影响 各浓度的 ECF 均对 3T3-L1 成熟脂肪细胞解耦联蛋白 UCP-1 和关键调控因子 PRDM16 的 mRNA 水平没有明显影响,且检测结果  $C_t$  值均  $<30$ ,说明各组 mRNA 表达量很低。0.2, 1  $g \cdot L^{-1}$  质量浓度的 ECF 可明显下调 PPAR $\gamma$  的基因表达 ( $P < 0.01$ )。见图 3。

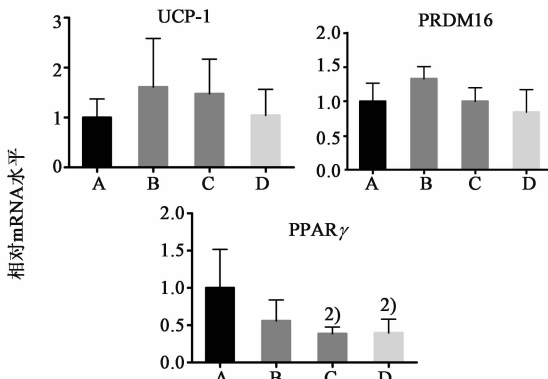


图 3 ECF 对 3T3-L1 脂肪细胞 UCP-1, PRDM16, PPAR $\gamma$  mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Fig. 3 Effects of ECF on mRNA expression of UCP-1, PRDM16, PPAR $\gamma$  in 3T3-L1 mature adipocytes ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

#### 4 讨论

在代谢性疾病早期,脂肪细胞线粒体的功能活性已受损,氧化代谢水平下降,线粒体密度减少<sup>[6]</sup>。线粒体是细胞生物能转化的主要场所,通过三羧酸循环和 ECT 消耗氧并释放营养物中的能量,产生水、二氧化碳和 ATP<sup>[7]</sup>。ATP 则在细胞中维持着 Na/K 泵, Ca 泵的功能,并在细胞蛋白合成、糖异生、尿素生成和糖类与脂类储存的转换中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。本研究结果显示 0.2  $g \cdot L^{-1}$  和 1  $g \cdot L^{-1}$  ECF 作用下 3T3-L1 成熟脂肪细胞的 ATP 生成增加,使基础呼吸上升,同时也增加了线粒体的最大呼吸能

力, 1  $g \cdot L^{-1}$  质量浓度下细胞储备呼吸能力亦有明显提升。正常环境下,脂肪细胞中的酶促反应<sup>[9]</sup>使化学键打开而释放的能量最大限度地用以生成 ATP, 最小限度以热能形式散失。但即使是氧化磷酸化与 ECT 最紧密藕联的情况下,质子漏的存在也会使一部分能量产热散失。本研究初步显示 0.04  $g \cdot L^{-1}$  ECF 增大了 3T3-L1 成熟脂肪细胞线粒体的质子漏解藕联产热的氧消耗。

进一步研究发现, 0.04  $g \cdot L^{-1}$  和 1  $g \cdot L^{-1}$  ECF 可以上调线粒体生物合成关键调节因子 PGC-1 $\alpha$  mRNA 水平。PGC-1 $\alpha$  可以通过激活下游靶基因 NRF-1, NRF-2 等增强线粒体的生物合成,提高脂肪细胞线粒体数量和氧化呼吸功能<sup>[10]</sup>。在 PGC-1 $\alpha$  的修饰调节上, AMPK 可以直接磷酸化 PGC-1 $\alpha$  的 Thr<sup>177</sup> 和 Ser<sup>538</sup> 增强 PGC-1 $\alpha$  的转录活性<sup>[11]</sup>, SIRT1 可以使 PGC-1 $\alpha$  去乙酰化增强其转录活性<sup>[12]</sup>, 同时 AMPK 能通过提升胞内 NAD<sup>+</sup> 水平增强 SIRT1 的活性以去乙酰化调节 SIRT1 下游靶蛋白 PGC-1 $\alpha$  的活性<sup>[13]</sup>。0.2  $g \cdot L^{-1}$  和 1  $g \cdot L^{-1}$  ECF 上调了 SIRT1 的基因表达,同时各浓度提取物均能不同程度增加 AMPK 的基因表达,提示山茱萸环烯醚萜总苷可能通过多种相互密切关联的作用共同调节 PGC-1 $\alpha$  活性而增强脂肪细胞线粒体生物合成。

白色脂肪细胞具有一定可塑性,在寒冷、肾上腺素受体信号通路激活和某些药物因素的刺激下发生米色化,线粒体数目增多并表达褐色脂肪细胞特征的 UCP1, PRDM16 等标志性蛋白<sup>[14]</sup>。UCP1 的表达使线粒体内膜跨膜质子浓度梯度由于质子漏而消除,增加解藕联产热的氧消耗而相对减少 ATP 的生成, PPAR $\gamma$  和 PGC-1 $\alpha$  则是 UCP1 表达的重要调控转录因子。本研究显示,虽然 0.04  $g \cdot L^{-1}$  ECF 增强了 3T3-L1 成熟脂肪细胞线粒体质子漏解藕联产热的氧消耗,上调了 PGC-1 $\alpha$  的基因表达,但 UCP1 和 PRDM16 mRNA 表达水平很低,且 0.2  $g \cdot L^{-1}$  和 1  $g \cdot L^{-1}$  提取物下调了 PPAR $\gamma$  mRNA 水平,说明山茱萸环烯醚萜总苷干预下 3T3-L1 成熟脂肪细胞并未出现米色化特征。PPAR $\gamma$  同时是脂肪细胞分化的决定性因子<sup>[15]</sup>, 比较的研究结果也提示文献报道的环烯醚萜苷类物质抑制脂肪细胞分化作用可能与抑制 PPAR $\gamma$  基因表达有关。

本研究结果提示山茱萸环烯醚萜总苷对成熟脂肪细胞有氧呼吸具有促进作用,这种作用可能与 AMPK, SIRT1, PGC-1 $\alpha$  多个因子的调节密切相关,增加 ATP 生成,细胞未出现米色化特点,其调节代

谢的具体靶点和分子机制尚不明确。山茱萸环烯醚萜总苷是包含了马钱苷、莫诺苷、獐牙菜苷、山茱萸新苷等一系列化合物的成分群类,本研究为从环烯醚萜总苷中分离纯化具有改善脂肪组织能量代谢作用的高效活性单体,并进一步揭示其具体分子机制奠定了基础。

[参考文献]

[ 1 ] Danaei G, Finucane M M, Lu Y, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants[J]. Lancet, 2011, 378(9785): 31-40.

[ 2 ] Roh C, Jung U. Screening of crude plant extracts with anti-obesity activity[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(2): 1710-1719.

[ 3 ] 戴冰,肖子曾,刘磊,等. 马钱苷对大鼠前脂肪细胞增殖与分化的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2007, 18(6): 448-450.

[ 4 ] 戴冰,肖子曾,刘磊,等. 六味地黄丸入血成分莫诺苷对大鼠前脂肪细胞增殖与分化的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(11): 1245-1249.

[ 5 ] Lowell B B, Shulman G I. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes [J]. Science, 2005, 307(5708): 384-387.

[ 6 ] Tseng Y H, Cypess A M, Kahn C R. Cellular bioenergetics as a target for obesity therapy[J]. Nat Rev Drug Discov, 2010, 9(6): 465-482.

[ 7 ] Clapham J C, Arch J R. Thermogenic and metabolic antiobesity drugs: rationale and opportunities [J]. Diabetes Obes Metab, 2007, 9(3): 259-275.

[ 8 ] Green D E, Zande H D. Universal energy principle of biological systems and the unity of bioenergetics [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1981, 78(9): 5344-5347.

[ 9 ] Shao D, Liu Y, Liu X, et al. PGC-1 beta-regulated mitochondrial biogenesis and function in myotubes is mediated by NRF-1 and ERR alpha [J]. Mitochondrion, 2010, 10(5): 516-527.

[ 10 ] Jäger S, Handschin C, St-Pierre J, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1alpha [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(29): 12017-12022.

[ 11 ] Rodgers J T, Lerin C, Haas W, et al. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1 [J]. Nature, 2005, 434(7029): 113-118.

[ 12 ] Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige J N, et al. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD+ metabolism and SIRT1 activity [J]. Nature, 2009, 458(7241): 1056-1060.

[ 13 ] Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential [J]. Nat Med, 2013, 19(10): 1252-1263.

[ 14 ] Ren D, Collingwood T N, Rebar E J, et al. PPARgamma knockdown by engineered transcription factors: exogenous PPARgamma2 but not PPARgamma1 reactivates adipogenesis [J]. Genes Dev, 2002, 16(1): 27-32.

[责任编辑 周冰冰]