

左、右归丸通过调节 AMPK/mTOR 通路抑制大鼠股骨成脂化的实验研究

胡美思 张文达 任艳玲*

辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847

中图分类号: R39 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 06-0802-06

摘要: 目的 基于 AMPK/mTOR 信号通路初步探讨左、右归丸对绝经后骨质疏松 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 大鼠成脂分化的调节机制。方法 将 60 只雌性 SD 大鼠随机分为空白组 (KB)、假手术组 (SHAM)、模型组 (OVX)、左归丸组 (ZGW)、右归丸组 (YGW)、补佳乐组 (BJL)。除 KB、SHAM 组外, 其余大鼠均摘除双侧卵巢, SHAM 组大鼠摘除双侧卵巢周围等量脂肪, 灌胃 12 周。应用数字化全身骨密度仪检测大鼠右侧股骨骨密度 (bone mineral density, BMD), 应用实时荧光定量 PCR 法检测大鼠右侧股骨 PPAR γ 、AMPK、mTORC1 mRNA 的表达, 采用 Western blot 法检测大鼠右侧股骨 PPAR γ 、C/EBP α 、C/EBP β 蛋白的表达以及 AMPK α 、mTOR 蛋白磷酸化水平。结果 左、右归丸能明显升高 PMOP 大鼠右侧股骨 BMD ($P<0.01$), 降低大鼠股骨成脂相关 mRNA 与蛋白的表达 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 降低 AMPK mRNA 的表达与蛋白磷酸化水平 ($P<0.01$), 升高 mTORC1 mRNA 的表达与蛋白磷酸化水平 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 与 ZGW 组相比, YGW 组 PMOP 大鼠右侧股骨 BMD 没有明显差异 ($P>0.05$), 股骨成脂分化相关 mRNA 与蛋白的表达明显升高 ($P<0.01$), 且 AMPK mRNA 的表达明显升高 ($P<0.01$), mTORC1 mRNA 的表达与蛋白磷酸化水平降低 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论 左、右归丸通过 AMPK/mTOR 通路改善了 PMOP 大鼠股骨成脂分化过度, 其作用机制可能与调节 AMPK、mTOR mRNA 的表达与蛋白磷酸化水平有关。

关键词: 左归丸; 右归丸; 绝经后骨质疏松模型大鼠; AMPK/mTOR 通路

Experimental study on the inhibition of lipogenesis of femur in PMOP rats with Zuo/You Gui Pills through AMPK/mTOR pathway

HU Meisi, ZHANG Wenda, REN Yanling*

Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

* Corresponding author: REN Yanling, Email: lnutcmren@163.com

Abstract: Objective This study was based on AMPK/mTOR signaling pathway, preliminarily investigated the regulation mechanism of Zuo/You gui pills on lipogenic differentiation in (postmenopausal osteoporosis, PMOP) rats. **Methods** Divided sixty SD female rats into six groups randomly: blank group (KB), sham operation group (SHAM), model group (OVX), Zuo gui pills group (ZGW), You gui pills group (YGW) and progynova group (BJL). Except for KB and SHAM group, all the other rats were ovariectomized. In SHAM group, the same amount of fat around the ovaries was removed and gavaged for 12 weeks. Used digital whole-body bone densitometer to detect the BMD of the right femur of rats, used real-time fluorescence quantitative PCR to detect the expression of PPAR γ , AMPK, mTORC1 mRNA in the right femur of rats, and used Western blot to detect the expression of PPAR γ , C/EBP α and C/EBP β protein and the phosphorylation level of AMPK α and mTOR protein in right femur of rats. **Results** Zuo/You gui pills significantly increased PMOP rats right femur BMD ($P<0.01$); decreased the expression of lipogenic mRNA and protein of femur ($P<0.01$ or $P<0.05$), decreased AMPK mRNA expression and protein phosphorylation level ($P<0.01$), and increased mTORC1 mRNA expression and protein phosphorylation level ($P<0.01$ or $P<0.05$). Compared with ZGW group, PMOP rats in the YGW group showed no significant difference in right femur BMD ($P>0.05$), significantly increased the expressions of adipogenic differentiation related mRNA and protein of femur ($P<0.01$), significantly increased the expressions of AMPK mRNA ($P<0.01$), and decreased the expressions of mTORC1 mRNA and protein phosphorylation level ($P<0.01$ or $P<0.05$). **Conclusion**

基金项目: 国家自然科学基金 (81774185)

* 通信作者: 任艳玲, Email: lnutcmren@163.com

Zuo/You gui pills can improve the over differentiation of femur in PMOP rats through AMPK / mTOR pathway. The mechanism may be related to the regulation of AMPK, mTOR mRNA expression and protein phosphorylation level.

Key words: Zuo gui pills; You gui pills; PMOP model rats; AMPK/mTOR pathway.

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是以女性绝经后雌激素分泌减少、骨转换加速和易发骨折为特点的一类骨质疏松, 临床伴有骨量快速降低与骨髓脂肪异常积累^[1-3]。成骨、脂肪细胞以竞争的方式由骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 分化形成, 且两者分化呈“此消彼长”的趋势^[4-5]。BMSCs 骨向与脂向分化不均与 PMOP 病理相关。大量研究表明^[6-7], 抑制 BMSCs 脂向分化, 促进骨向分化, 调节骨-脂分化平衡能够改善骨丢失。左、右归丸是“阴阳互济”代表方, 既往研究^[8]表明, 左、右归丸均能抑制去卵巢大鼠脂向分化, 促进骨形成, 但改善机制尚不明确。AMP 活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 和雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是机体能量感受器, 通过感应机体能量状态而被激活, 以参与调节脂质、蛋白质合成, 自噬等生命过程^[9]。本研究将通过 AMPK/mTOR 通路初步探讨左、右归丸对 PMOP 模型大鼠股骨脂向分化的调节机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物: 60 只 SD 雌性未生育大鼠 [许可证号: SCXK (京) 2014-0010], SPF 级, 2 月龄, 体重 200~220 g, 购于辽宁长生生物技术有限公司, 并于辽宁中医药大学动物实验中心饲养。

1.1.2 试剂与仪器: SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒 (WLA013)、AMPK α 抗体 (WL02254)、mTOR 抗体 (WL02477)、p-mTOR 抗体 (WL03694)、PPAR γ 抗体 (WL01800)、C/EBP α 抗体 (WL02959)、C/EBP β 抗体 (WL0 056 A)、内参 β -actin (WL01845) 均由 wanleibio 提供; p-AMPK α 抗体 (ab133448, abcam); PrimeScriptTM RT Master Mix (Perfect Real Time, RR036 A, Takara); SYBR Premix Ex TaqTM II (RR820, Tli RNaseH Plus); 酶标仪 (BIOTEK); Trizol (135306, Ambion), 荧光定量 PCR 仪 (CG-05, Heal Force); Micro 17R 微量台式离心机 (美国 Thermo 公司); 电泳仪 (DYY-7C) 与转移槽 (DYCZ-40D) 均由北京六一公司提供; 数字化全身骨密度仪 (STRATOS DR, 法国, Diagnostic Medical System

SA)。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组: 大鼠适应性喂养 1 周, 随机分为空白组 (KB)、假手术组 (SHAM)、模型组 (OVX)、左归丸组 (ZGW)、右归丸组 (YGW)、补佳乐组 (Estradiol Valerate, BJL), 共 6 组。除 KB 组外, 其余大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (0.3 mL/100 g) 进行麻醉, SHAM 组大鼠摘除双侧卵巢周围等量脂肪, 剩余大鼠从背部摘除双侧卵巢, 建立 PMOP 模型大鼠, 除造模、灌胃等原因导致大鼠死亡 12 只, 取材时纳入大鼠 48 只, 每组 8 只。

1.2.2 药物制备与给药剂量: 戊酸雌二醇片 (商品名: 补佳乐, 批号: 国药准字 J20130009, DELPHARM Lille S.A.S.) 用蒸馏水制备为 0.1 mg/L 的药液。左归丸: 熟地黄 24 g, 炒山药 12 g, 鹿角胶 12 g (烊化), 菟丝子 12 g (包煎), 山萸肉 12 g, 枸杞子 12 g, 牛膝 9 g, 龟板胶 12 g (烊化)。右归丸: 熟地黄 24 g, 炒山药 12 g, 菟丝子 12 g (包煎), 附子 6 g (先煎), 山茱肉 12 g, 肉桂 6 g, 枸杞子 12 g, 杜仲 9 g, 当归 9 g, 鹿角胶 12 g (烊化)。左、右归丸生药购于辽宁中医药大学附属第一医院, 经中药饮片质量管理小组进行质量鉴定, 自制成水煎液 (生药量: 1 g/mL)。造模 3 d 后, 大鼠灌胃给药, KB、SHAM、OVX、ZGW、YGW、BJL 组灌胃剂量分别为: 蒸馏水 1.0 g/kg、蒸馏水 1.0 g/kg、蒸馏水 1.0 g/kg、左归丸 9.69 g/kg、右归丸 10.52 g/kg、补佳乐药液 9×10^{-5} g/kg, 每周连续灌胃 6 d, 休息 1 d, 每天灌胃 1 次, 连续给药 12 周。

1.2.3 检测大鼠右侧股骨骨密度: 大鼠取材前, 采用乙醚麻醉, 应用数字化全身骨密度仪 (型号 STRATOS DR, 法国) 检测各组大鼠右侧股骨骨密度 (bone mineral density, BMD), 采用 DEX 数字立体扇扫, 结合双能 X 射线吸收和二维扇束成像技术, 通过自动病人屏幕观察定位技术 (Easy Scan) 直接探测, 检测速度 3 min/全身, 分辨率 400 μ m, 峰值电压 43-70 KeV, 激光指示器波长 670 nm。仪器由辽宁中医药大学慢性病医院康复中心提供, 扫描时无介质。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 法检测 mRNA 的表达: 采用实时荧光定量 PCR 法检测大鼠右侧股骨干骺端 PPAR γ 、AMPK、mTORC1 mRNA 的表达, 每组 3 只。Trizol 法提取骨组织总 RNA, 反转录合成

cDNA,引物序列由 Takara 公司合成: GAPDH 上游引物 5'-TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3',下游引物 5'-TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG-3'; PPAR γ 上游引物: 5' TTGATTTCTCCAGCATTTTC-3',下游引物 5'-TGATCGCACTTTGGTATT-3'; AMPK 上游引物 5' TTCGGGAAAGTGAAGGTGGG-3',下游引物 5'-TCTCTCTGCGGATTTTCCCG-3'; mTORC1 上游引物 5'-AGGACCAGAAGAAGGTGTG-3',下游引物 5'-GAAAAGTTACATGCCGGGCT-3'。反转录条件: 37 $^{\circ}\text{C}$, 15 min, 85 $^{\circ}\text{C}$, 5 s。按照荧光定量 PCR 试剂盒配置反应体系,设置 PCR 热循环参数: 95 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$, 5 s; 60 $^{\circ}\text{C}$, 30 s 收集荧光(40 个循环)。结果用相对定量法: $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算目的 mRNA 相对表达量。

1.2.5 Western blot 法检测蛋白的表达: 采用 Western blot 法检测大鼠右侧股骨干骺端 PPAR γ 、C/EBP α 、C/EBP β 、AMPK α 、p-AMPK α 、mTOR、p-mTOR 蛋白的表达,每组 3 只。液氮研磨骨组织,称取 0.2 g,加入相应体积裂解液充分研磨。提取蛋白,取上清液,加入等量上样缓冲液以蛋白变性。进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,每孔上样等量蛋白,电压 80 V,恒压电泳 2.5 h。转印、封闭,封闭条件: 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴震荡 1 h。孵育一抗、二抗,一抗蛋白浓度分别为: 1:500、1:500、1:500、1:500、1:2 000、1:500、1:500;二抗孵育条件: 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴震荡 45 min。洗膜、底物发光。用凝胶图象处理系统(Gel-Pro-Analyzer 软件)分析条带的灰度值。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组比较采用 ANOVA,组间比较采用 LSD 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 左、右归丸对 PMOP 大鼠右侧股骨 BMD 的影响

与 KB 组比较,OVX 组大鼠 BMD 显著降低($P < 0.01$),成功制备 PMOP 模型大鼠;与 OVX 组比较,ZGW、YGW、BJL 组大鼠 BMD 明显升高($P < 0.01$);与 ZGW 组比较,YGW、BJL 组大鼠 BMD 没有差异($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 左、右归丸对 PMOP 大鼠右侧股骨 BMD 的影响($\bar{x} \pm s$, g/cm 2)

组别	例数	骨密度
KB	8	0.1242 $\pm$ 0.0262
SHAM	8	0.1233 $\pm$ 0.0206
OVX	8	0.0895 $\pm$ 0.0136 $\blacktriangledown\blacktriangledown$
ZGW	8	0.1276 $\pm$ 0.0198 $\diamond\diamond$
YGW	8	0.1186 $\pm$ 0.0212 $\diamond\diamond$
BJL	8	0.1296 $\pm$ 0.0202 $\diamond\diamond$

注:与 KB 组比较, $\blacktriangledown\blacktriangledown P < 0.01$;与 OVX 组比较, $\diamond\diamond P < 0.01$ 。

2.2 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 C/EBP α 、C/EBP β 蛋白以及 PPAR γ mRNA 与蛋白表达的影响

2.2.1 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 C/EBP α 、C/EBP β 蛋白表达的影响: 与 KB 组比较,OVX 组大鼠股骨 C/EBP α 、C/EBP β 蛋白表达明显升高($P < 0.01$);与 OVX 组比较,ZGW、YGW、BJL 组大鼠股骨 C/EBP α 、C/EBP β 蛋白表达降低($P < 0.01$);与 ZGW 组比较,YGW、BJL 组大鼠股骨 C/EBP α 蛋白表达没有差异($P > 0.05$);与 ZGW 组比较,YGW 组大鼠股骨 C/EBP β 蛋白表达明显升高($P < 0.01$),BJL 组大鼠股骨 C/EBP β 蛋白表达没有显著差异

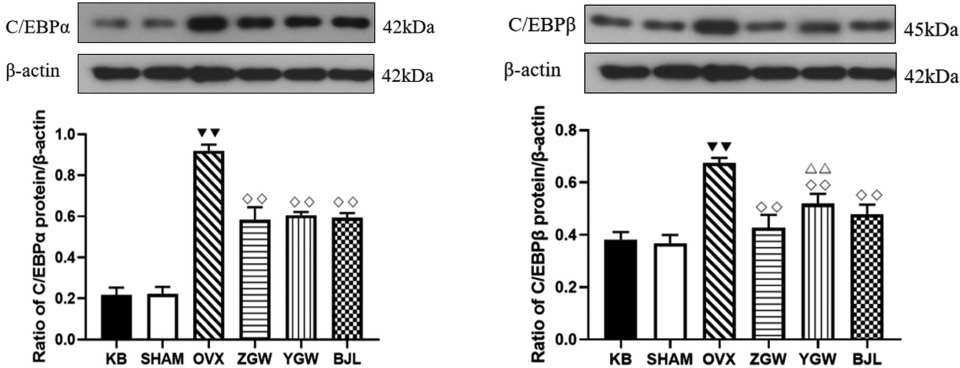


图 1 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 C/EBP α 、C/EBP β 蛋白表达的影响

注:与 KB 组比较, $\blacktriangledown\blacktriangledown P < 0.01$;与 OVX 组比较, $\diamond\diamond P < 0.01$;与 ZGW 比较, $\triangle\triangle P < 0.01$ 。

Fig.1 Effect of Zuo/Yuo pills on C/EBP α and C/EBP β proteins expression in PMOP rat femur

($P>0.05$)。见图 1。

2.2.2 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 PPAR γ mRNA 与蛋白表达的影响:与 KB 组比较,OVX 组大鼠股骨 PPAR γ mRNA 与蛋白表达明显升高($P<0.01$);与 OVX 组比较,ZGW、YGW、BJL 组大鼠股骨 PPAR γ mRNA 与蛋白表达明显降低($P<0.01$ 或

$P<0.05$);与 ZGW 组比较,YGW、BJL 组大鼠股骨 PPAR γ mRNA 表达明显升高($P<0.01$);与 ZGW 组比较,YGW 组大鼠股骨 PPAR γ 蛋白表达明显升高($P<0.05$),BJL 组大鼠股骨 PPAR γ 蛋白表达没有显著差异($P>0.05$)。见图 2。

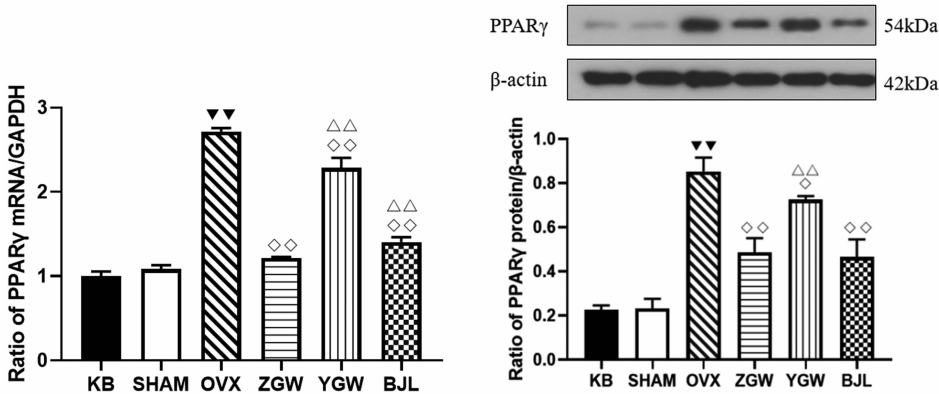


图 2 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 PPAR γ mRNA 与蛋白表达的影响
Fig.2 Effect of Zuo/Yuo gui pills on PPAR γ mRNA and protein expression in PMOP rat femur
注:与 KB 组比较,▼▼ $P<0.01$;与 OVX 组比较,◇◇ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;

2.3 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 AMPK/mTOR 信号通路的影响

2.3.1 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 AMPK mRNA 的表达与蛋白磷酸化水平的影响:与 KB 组比较,OVX 组大鼠股骨 AMPK mRNA 表达明显升高($P<0.01$);与 OVX 组比较,ZGW、YGW、BJL 组大鼠股骨 AMPK mRNA 表达明显降低($P<0.01$);与 ZGW

组比较,YGW、BJL 组大鼠股骨 AMPK mRNA 表达明显升高($P<0.01$)。与 KB 组比较,OVX 组大鼠股骨 AMPK α 磷酸化水平明显升高($P<0.01$);与 OVX 组比较,ZGW、YGW、BJL 组大鼠股骨 AMPK α 磷酸化水平明显降低($P<0.01$);与 ZGW 组比较,YGW、BJL 组大鼠股骨 AMPK α 磷酸化水平没有显著差异($P>0.05$)。见图 3。

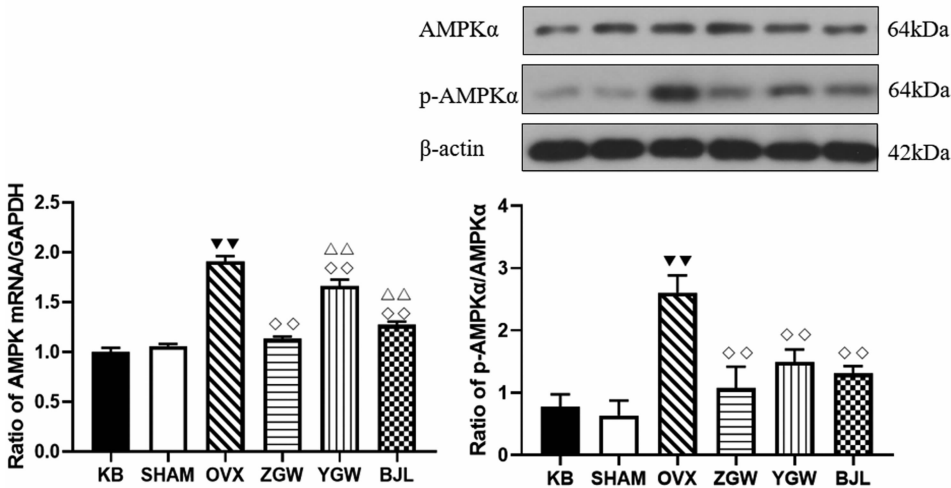


图 3 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 AMPK mRNA 的表达与蛋白磷酸化水平的影响
注:与 KB 组比较,▼▼ $P<0.01$;与 OVX 组比较,◇◇ $P<0.01$;与 ZGW 比较,△△ $P<0.01$ 。
Fig.3 Effect of Zuo/Yuo gui pills on AMPK mRNA expression and protein phosphorylation in PMOP rat femur

2.3.2 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 mTOR mRNA 的表达与蛋白磷酸化水平的影响:与 KB 组比较,OVX 组大鼠股骨 mTORC1 mRNA 表达明显降低 ($P<0.01$);与 OVX 组比较,ZGW、YGW、BJL 组大鼠股骨 mTORC1 mRNA 表达明显升高 ($P<0.01$)。与 ZGW 组比较,YGW、BJL 组大鼠股骨 mTORC1 mRNA 表达明显降低 ($P<0.01$)。与 KB 组比较,

OVX 组大鼠股骨 mTOR 蛋白磷酸化水平明显降低 ($P<0.01$);与 OVX 组比较,ZGW、YGW、BJL 组大鼠股骨 mTOR 蛋白磷酸化水平明显升高 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。与 ZGW 组比较,YGW 组大鼠股骨 mTOR 蛋白磷酸化水平明显降低 ($P<0.05$),BJL 组大鼠股骨 mTOR 蛋白磷酸化水平没有显著性差异 ($P>0.05$)。见图 4。

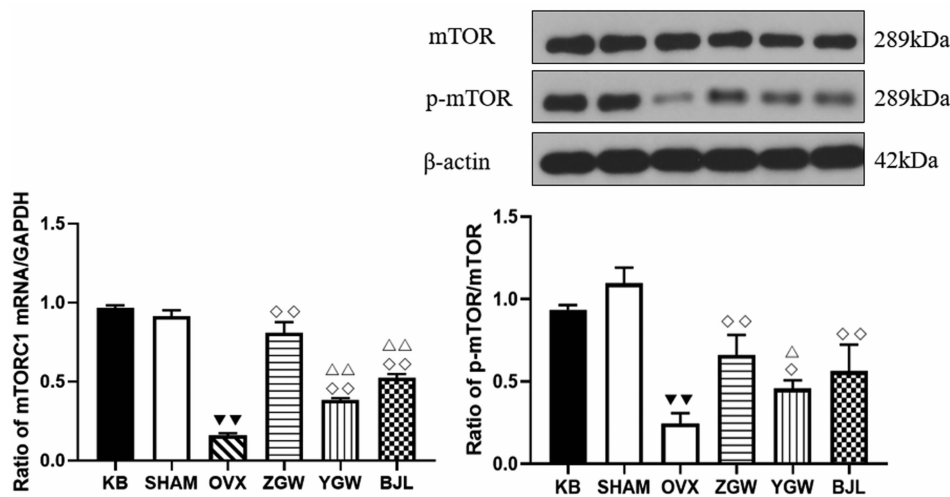


图 4 左、右归丸对 PMOP 大鼠股骨 mTORC1 mRNA 的表达与蛋白磷酸化水平的影响
注:与 KB 组比较,▼ $P<0.01$;与 OVX 组比较,◇ $P<0.05$,◇◇ $P<0.01$;与 ZGW 比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$ 。

Fig.4 Effect of Zuo/Yu gui pills on mTORC1 mRNA expression and protein phosphorylation in PMOP rat femur

3 讨论

中医学认为,肾藏精化髓,决定身体的生长发育机能,具体体现在骨骼“生、长、壮、老、已”的改变。肾精亏虚,则生长发育机能衰退,骨组织出现相应病理性改变。绝经女性由于肾精亏虚,导致骨、脂代谢紊乱,主要表现为骨量快速下降,BMSCs 脂向分化过度,骨髓脂肪异常堆积。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators activate receptor gamma,PPAR γ) 与 CCAAT/增强子结合蛋白 α 、 β (CCAAT/enhancer binding protein alpha and beta,C/EBP α 、C/EBP β) 在形成脂肪方面发挥重要作用,CEBP/ β 能够诱导 PPAR γ 早期表达,PPAR γ 诱导并协同 C/EBP α 调节成熟脂肪的形成^[10]。

AMPK 与 mTOR 存在于所有真核生物中,参与调节脂质合成、代谢^[11-12]。AMPK 是细胞能量检测与调控因子,当机体低能状态时被激活,活化的 AMPK 促进产生 ATP 的途径(脂肪分解),并抑制消耗 ATP 的途径(蛋白质、脂质合成、mTOR 信号通路等)以平衡机体能量的产生与消耗^[13]。mTOR 位于 AMPK 下游,是磷酸肌醇 3 激酶(PI3K)样丝氨酸/

苏氨酸蛋白激酶,有两种复合物 mTORC1、mTORC2,其中,活化的 mTORC1 激活其下游效应分子核糖体 S6K 激酶 1(P70S6k1)和真核翻译转录起始因子(4EBP-1),参与调节蛋白质、脂质等的合成,是脂肪组织的调节信号通路^[14]。小型 GTP 酶 Rheb 是 RAS 家族 GTP 结合蛋白的成员,位于 mTOR 上游,正向调节 mTORC1,并位于 TSC1/2 下游,激活的 TSC1/2 使 Rheb 从活化状态(Rheb-GTP)转换为失活状态(Rheb-GDP)^[15]。磷酸化是可逆的蛋白质翻译后修饰方式之一,低能状态下,激活的 AMPK 通过磷酸化 T1227 和 S1 345 位点激活 TSC2,活化的 TSC2 抑制 Rheb,进而抑制 mTORC1 及其下游 P70S6k1 和 4EBP-1,以调节机体合成、代谢过程^[16-17]。

左、右归丸出自《景岳全书·新方八阵》,是明代张介宾治疗肾精亏虚的名方。两方组成均含有熟地黄、山萸肉、山药、鹿角胶等,共有填精益髓之效,然两方在组方功效方面又有区别,左归丸在大量滋阴药熟地黄、龟板胶等中配伍少量补阳之菟丝子、鹿角胶,旨在“阳中求阴”,功效偏于滋补肾阴;右归丸则在温阳药附子、肉桂、鹿角胶等中配伍滋阴之熟地

黄、山萸肉等,意在“阴中求阳”,功效偏于温补肾阳。课题组前期研究表明^[8,18],左、右归丸能够降低PMOP大鼠成脂分化,并且偏于滋肾阴的左归丸通过促进成骨分化同时降低成脂分化;而偏于温肾阳的右归丸,助阳以化气,加速脂质代谢运转,从而达到调节PMOP大鼠骨-脂分化平衡的作用。本次实验基于前期实验探究左、右归丸通过AMPK/mTOR通路干预PMOP大鼠成脂分化的作用机理。

本研究结果显示,OVX组大鼠股骨成脂分化相关基因与蛋白的表达明显升高,大鼠股骨AMPK mRNA的表达与蛋白磷酸化水平明显升高,mTORC1 mRNA的表达与蛋白磷酸化水平明显降低;经左、右归丸给药后,PMOP大鼠股骨成脂分化相关基因与蛋白的表达明显降低,AMPK mRNA的表达与蛋白磷酸化水平明显降低,mTOR mRNA的表达与蛋白磷酸化水平明显升高,提示左、右归丸可能通过干预AMPK/mTOR通路调节PMOP大鼠股骨成脂分化。然而,两方的调节作用亦有差异,其中,滋肾阴的左归丸可能通过降低AMPK mRNA的表达与蛋白磷酸化水平,升高mTOR mRNA的表达与蛋白磷酸化水平,从而降低PMOP大鼠股骨成脂分化;与左归丸相比,温肾阳的右归丸通过升高AMPK mRNA的表达,降低mTOR mRNA的表达与蛋白磷酸化水平,降低PMOP大鼠股骨成脂分化,并且左归丸降低大鼠股骨成脂分化的作用优于右归丸,这可能与左、右归丸调节AMPK/mTOR通路的差异有关。

本研究初步探讨了左、右归丸通过干预AMPK/mTOR通路调节PMOP模型大鼠股骨成脂分化,两方具体作用机制有待进一步研究。

【参 考 文 献】

- [1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松症诊疗指南[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(3):281-309.
- [2] Zhang A, Ma Z, Sun H, et al. High-throughput metabolomics evaluate the efficacy of total lignans from *acanthopanax senticosus* stem against ovariectomized osteoporosis rat[J]. Front Pharmacol, 2019, 10:553.
- [3] 王明明,李雪峰,李冠武,等. mDixon 与 MRS 定量骨髓脂肪的对比研究[J]. 临床放射学杂志, 2018, 37(11):1892-1896.
- [4] Yang X, Wang G, Wang Y, et al. Histone demethylase KDM7A reciprocally regulates adipogenic and osteogenic differentiation via regulation of C/EBP α and canonical Wnt signalling[J]. J Cell

- Mol Med, 2019, 23(3):2149-2162.
- [5] Ni LH, Tang RN, Yuan C, et al. FK506 prevented bone loss in streptozotocin-induced diabetic rats via enhancing osteogenesis and inhibiting adipogenesis [J]. Ann Transl Med, 2019, 7(12):265.
- [6] Li J, Xin Z, Cai M. The role of resveratrol in bone marrow-derived mesenchymal stem cells from patients with osteoporosis[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(10):16634-16642.
- [7] Song J, Li J, Yang F, et al. Nicotinamide mononucleotide promotes osteogenesis and reduces adipogenesis by regulating mesenchymal stromal cells via the SIRT1 pathway in aged bone marrow[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(5):336.
- [8] 张添昊.左归丸与右归丸干预去卵巢大鼠骨髓成骨与成脂的研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2017.
- [9] Garcia D, Sham RJ. AMPK:mechanism of cellular energy sensing and restoration of metabolic balance[J]. Mol Cell, 2017, 66(6):789-800.
- [10] Zuo Y, Qiang L, Farmer SR. Activation of CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) α expression by C/EBP beta during adipogenesis requires a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-associated repression of HDAC1 at the C/ebp alpha gene promoter[J]. J Biol Chem, 2006, 281(12):7960-7967.
- [11] Javary J, Allain-Courtois N, Saucisse N, et al. Liver Reptin/RUVBL2 controls glucose and lipid metabolism with opposite actions on mTORC1 and mTORC2 signalling[J]. Gut, 2018, 67(12):2192-2203.
- [12] Hong M, Li N, Li J, et al. Adenosine monophosphate-activated protein kinase signaling regulates lipid metabolism in response to salinity stress in the red-eared slider turtle *trachemys scripta elegans*[J]. Front Physiol, 2019, 10:962.
- [13] Jacquelin A, Luciano F, Robert G, et al. Implication and regulation of AMPK during physiological and pathological myeloid differentiation[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10):2991.
- [14] Polak P, Cybulski N, Feige JN, et al. Adipose-specific knockout of raptor results in lean mice with enhanced mitochondrial respiration[J]. Cell Metab, 2008, 8(5):399-410.
- [15] Deng L, Chen L, Zhao L L, et al. Ubiquitination of Rheb governs growth factor-induced mTORC1 activation[J]. Cell Res, 2019, 29(2):136-150.
- [16] Inoki K, Zhu T Q, Guan KL. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival[J]. Cell, 2003, 115(5):577-590.
- [17] Hong-Brown LQ, Brown CR, Kazi AA, et al. Rag GTPases and AMPK/TSC2/Rheb mediate the differential regulation of mTORC1 signaling in response to alcohol and leucine[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2012, 302(10):C1557-C1565.
- [18] 孙月娇.左、右归丸及其拆方去卵巢骨质疏松大鼠成骨与成脂平衡的研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2017.

(收稿日期:2019-10-20;修回日期:2019-12-18))