

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.15.004

白藜芦醇抑制小鼠肥胖的功效及相关机制探讨 *

金美玲^{1#} 孟凡彪^{2#} 赖奕宏^{1#} 沈倩¹ 敖英^{2Δ}

(1 深圳大学糖尿病、肥胖及代谢病中心 广东 深圳 518060; 2 深圳大学基础医学院 广东 深圳 518060)

摘要 目的:研究白藜芦醇抑制高脂引起的肥胖的作用机制。**方法:**将 18 只 C57 小鼠随机分为 3 组,分别为对照组、高脂以及高脂 + 白藜芦醇小鼠模型,给小鼠喂养一定剂量白藜芦醇(100 mg/kg/d),喂养 12 周。提取小鼠皮下脂肪细胞,分化成熟,加入白藜芦醇,采用 qRT-PCR 以及 Western blot 等方法检测 HO-1 以及棕色脂肪标志基因的表达。通过 qRT-PCR 检测小鼠脂肪组织炎症因子、UCP-1 以及 HO-1 的表达。**结果:**白藜芦醇在体内可以明显抑制高脂引起的肥胖,糖耐量异常,同时促进棕色脂肪标志基因 UCP-1、PGC-1 以及 PRDM16 的表达。白藜芦醇还可抑制肥胖小鼠脂肪组织炎症因子的增加以及抗炎蛋白 HO-1 的表达。在体外分化的成熟的皮下脂肪细胞中,白藜芦醇同样可以促进棕色脂肪标志基因 UCP-1、PGC-1 以及 PRDM16 的表达。白藜芦醇通过促进抗炎蛋白 HO-1 的表达抑制高脂引起的脂肪炎症反应。**结论:**白藜芦醇可以通过促进白色脂肪棕色化以及抑制慢性低度炎症抑制高脂引起的肥胖、糖耐量异常以及改善胰岛素敏感性。

关键词:白藜芦醇;肥胖;棕色脂肪;血红素加氧酶 1

中图分类号:R-33;R589.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2018)15-2819-05

Resveratrol Exerts Anti-obesity Effect Involving Modulation of UCP-1 and HO-1*

JIN Mei-ling^{1#}, MENG Fan-biao^{2#}, LAI Yi-hong^{1#}, SHEN Qian¹, AO Ying^{2Δ}

(1 Center for Diabetes, Obesity and Metabolism, Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong, 518060, China;

2 Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong, 518060, China)

ABSTRACT Objective: Investigated the mechanisms underlying resveratrol inhibited HFD-induced obesity. **Methods:** In this study we investigated the anti-obesity effect of resveratrol in vivo and in vitro. Four-week-old Mice were fed with normal diet (ND, n=6), high-fat diet (60% energy from fat, HFD, n=6), high-fat diet with resveratrol daily at a dose of 100 mg/kg/day (RSV, n=6), for 12 weeks. We also detected the effects of resveratrol on brown adipocytes markers and HO-1 expression in primary subcutaneous adipocytes. Then, expressions levels of HO-1 and brown adipocytes marks were analyzed by qPCR and Western blot. **Results:** The results showed that resveratrol significantly inhibited mice body weight induced by high fat diet. In this study, we report the identification of resveratrol, as a novel inducer of brown adipocytes genes UCP-1, PGC-1 and PRDM16 expression in vivo. Additionally, resveratrol also inhibited inflammatory mediators and induced anti-inflammatory enzyme HO-1 expression in adipose tissue. Further, in primary subcutaneous adipocytes, resveratrol also induced brown adipocytes marker genes expression including UCP-1, PGC-1 and PRDM16. The anti-inflammatory effects of resveratrol dependent on HO-1 expression in vitro. **Conclusions:** Altogether, our results demonstrate that resveratrol induces brown adipocytes marker genes and anti-inflammatory gene HO-1 expression, thereby inhibits high fat diet-induced obesity and insulin resistance.

Key words: Resveratrol; Obesity; Brown adipocytes; HO-1

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R589.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)15-2819-05

前言

肥胖是指机体脂肪总含量过多和(或)局部含量增多及分布异常,是一种由遗传和环境等因素共同引起慢性代谢性疾病^[1]。

研究发现当体内米色脂肪以及棕色脂肪增加时,可抑制白色脂肪增多,在特定条件下,米色脂肪细胞可表现出棕色脂肪细胞的特性^[2,3]。肥胖发生过程中脂肪组织的扩张会增加炎症因子的释放如细胞因子以及趋化因子等,诱导免疫细胞向脂肪组织的

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31501109)

作者简介:金美玲(1987-),博士后,主要研究方向:脂质生物学,E-mail: y102513@163.com,电话:18033410451

孟凡彪(1986-),博士后,主要研究方向:干细胞生物,E-mail: mfanbiao@hotmail.com

赖奕宏(1992-),硕士研究生,主要研究方向:脂肪代谢生物学,E-mail: eyphn@qq.com

金美玲、孟凡彪与赖奕宏为共同第一作者

Δ 通讯作者:敖英(1988-),博士后,主要研究方向:脂肪代谢生物学,E-mail: kelleysweet@163.com

(收稿日期:2017-10-29 接受日期:2017-11-23)

浸润反应,引起胰岛素抵抗^[4]。因此,研究发现一些抗炎药物具有消除炎症反应并缓解胰岛素抵抗的功能^[5]。白藜芦醇(resveratrol, RSV)作为一种多酚类化合物,具有多种生物活性如抗衰老,抗氧化和抗肿瘤等^[6]。此外,这类多酚类化合物在抗炎以及抑制肥胖,调控能量代谢等方面也具有一定的作用^[9-12]。血红素加氧酶 1(hemeoxygenase 1, HO-1)是一种重要的抗氧化剂及组织保护酶^[6,7]。有研究证明白藜芦醇可通过诱导 HO-1 的表达抑制 LPS 引起的炎症反应^[13]。因此,本研究主要研究白藜芦醇通过对 UCP1 以及 HO-1 调控作用以及抑制肥胖的作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

白藜芦醇购自美国 Sigma 公司;抗 UCP1 兔多克隆抗体、抗 HO-1 兔多克隆抗体和 Tubulin 鼠多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗购于美国 Cell Signal Technology 公司。

1.2 方法

1.2.1 原皮下脂肪细胞提取及分化 小鼠麻醉处死,取皮下脂肪,用 PBS 冲洗后放入含有胶原酶 I 的 EP 管,用手术剪剪碎,置于 37 °C 摇床,170 r/min,30 min,1000 r/min 离心去上清,沉淀重悬于完全培养基(DMEM+10% FBS)中,培养,分化。

1.2.2 油红 O 染色 利用异丙醇配制 1%油红 O 储液,室温静置过夜,滤纸过滤后备用。染色时,取 6 mL 1%储液,加入 4 mL 蒸馏水,混匀并过滤后作为工作液使用。诱导分化后的脂肪细胞,以 PBS 轻柔漂洗 1 次,10%甲醛室温固定 10 min。加入油红 O 工作液染色 10 min,弃去染液,PBS 漂洗 1 次,通过倒置显微镜拍照。

1.2.3 动物模型构建 C57/BL6 小鼠经过 1 周适应性的饲养后,将小鼠随机分为 3 组:正常对照组(Con 组,n=6),高脂饮食组(HFD 组,n=6),RSV 剂量组(RSV 100 mg/kg/day,n=6)。Con 组给予正常小鼠饲料,HFD,白藜芦醇组(RSV 组)给予高脂饲料,所有动物连续喂养 12 周,期间每周测定动物体重 2 次。第 12 周末,所有动物禁食过夜,称重,麻醉,取材。取出所有皮下脂肪,称重,计算皮下脂肪占体重的比例。

1.2.4 葡萄糖耐量试验(GTT)和胰岛素耐量(ITT)试验 小鼠禁食 16 h 后,腹腔注射葡萄糖 3g/kg,分别于 0、15、30、60、90、120 min 鼠尾采血测定血糖水平,绘制 GTT 曲线。小鼠禁食 4 h 后,腹腔注射胰岛素 1 U/kg,分别 0、15、30、60、90、120 min 采

血测定血糖值,绘制 ITT 曲线。

1.2.5 Western Blot 检测 UCP-1 及 HO-1 蛋白表达水平 利用 RIPA 裂解液抽提细胞总蛋白,BCA 法定量,每泳道上样量 35 μg,SDS-PAGE 电泳。电泳结束后,用湿转法将蛋白转移到 PVDF 膜上用含 5 %脱脂奶粉的 TBST 室温封闭 PVDF 膜 1 h,孵育一抗、二抗。

1.2.6 RT-qPCR 使用 TRIzol 试剂盒(Invitrogen 公司)按说明提取总 RNA。用鸟类成髓细胞瘤病毒反转录酶(TaKaRa 公司)逆转录成 cDNA;用 1 μL 的逆转录产物作为模板;使用 qPCR 试剂盒,利用 ABI 7500 Fast 实时荧光定量 PCR 仪分析样品中目的基因 mRNA 含量,PCR 反应体系为 20 μL。各组扩增结果以 beta-actin 为内参,利用 2^{-ΔΔCt} 法做相对定量分析。

1.3 统计学分析

实验所得数据经 GraphPad Prism 软件处理,数据之间的差异用 one-way ANOVA 方法进行分析,p<0.05 表示差异具有统计学意义,P<0.01 表示差异具有显著性,P<0.001 表示差异具非常显著性,P>0.05 则表示差异无统计学意义(no significance, NS)。

2 结果

2.1 RSV 明显抑制高脂喂养小鼠肥胖的形成

18 只 C57 小鼠随机分为三组,对照组(ND),高脂组(HFD)以及高脂+RSV(RSV)组。研究发现,高脂饮食喂养 12 周后,高脂组小鼠的体重比对照组小鼠体重明显增加,同时高脂组出现明显的糖耐量异常,肥胖小鼠造模成功。而在加入 RSV 的实验组,RSV 对高脂饮食诱导的小鼠体重增长具有抑制作用(图 1a)。与正常组相比,高脂喂养小鼠皮下白色脂肪重量比明显增多,在 RSV 实验组则明显降低(图 1b)。GTT 结果表明:HFD 组小鼠在注射葡萄糖 15 min 以及 30 min 后血糖达到峰值,且明显高于 ND 组以及 RSV 组,随后下降缓慢,血糖波动大。与 HFD 组相比,RSV 组小鼠血糖值与 ND 组相近,血糖值明显比 HFD 组低。ITT 结果表明:在注射胰岛素 15 min 和 30 min 内,ND 组小鼠血糖迅速下降,随后缓慢上升,HFD 组小鼠血糖下降缓慢,且始终维持在较高水平;RSV 组和 ND 组血糖值相近,且比 HFD 组小鼠血糖值下降更多(图 1c)。结论:RSV 可以明显改善高脂饮食引起的糖耐量异常以及胰岛素敏感性(图 1b 和 c)。

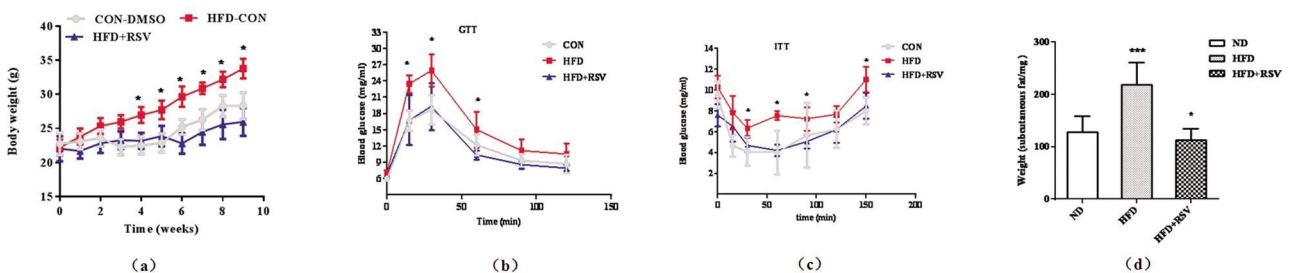


图 1 白藜芦醇抑制高脂引起的肥胖。(a)白藜芦醇对小鼠体重的影响。(b)白藜芦醇对小鼠糖耐量的影响。(c)白藜芦醇对皮下脂肪重量的影响。(d)白藜芦醇对胰岛素敏感性的影响。

Fig.1 RSV inhibited HFD-induced obesity, (a) Effects of RSV on body weight. (b) Effects of RSV on IPGTT. (c) Effects of RSV on subcutaneous adipose weight. (d) Effects of RSV on ITT.

2.2 RSV 诱导 UCP1 以及 HO-1 的表达

研究发现,RSV 对高脂饮食引起的肥胖有明显的抑制作用。实验检测了白藜芦醇对白色脂肪棕色化的影响,结果如下:与 ND 组小鼠以及 HFD 组小鼠相比,RSV 组小鼠皮下脂肪中,棕色脂肪的标志物的 mRNA 表达量明显升高,包括 UCP-1、PGC-1 以及 PRDM16。白色脂肪棕色化有助于促进小鼠皮下脂

肪以热量形式散发出去,抑制脂肪增加。另外,RSV 同样诱导具有抗炎、抗氧化作用的蛋白酶 HO-1 的 mRNA 的表达。RSV 组小鼠皮下脂肪中,UCP-1 以及 HO-1 的蛋白水平表达量也同样增加。这些结果说明:RSV 可以明显促进小鼠皮下脂肪的棕色化同时抑制脂肪炎症反应。

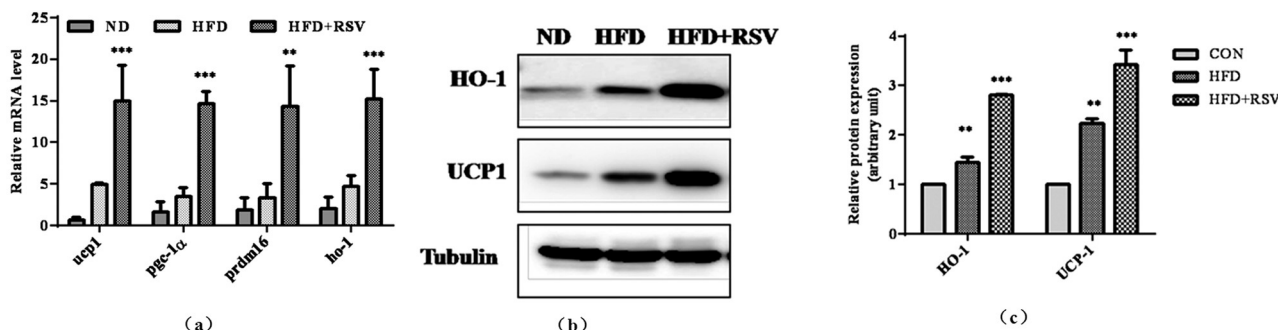


图2 白藜芦醇诱导 UCP-1 和 HO-1 mRNA 和蛋白的表达。(a)在小鼠皮下脂肪,白藜芦醇诱导棕色脂肪标志基因以及 HO-1 的表达。(b)白藜芦醇对 HO-1 以及 UCP-1 蛋白水平表达的影响。(c)蛋白表达灰度值分析。

Fig.2 RSV increased mRNA and protein expression of UCP-1 and HO-1. (a) Effects of RSV on brown adipocyte markers and HO-1 expression in mice. (b) Effects of RSV on HO-1 and UCP-1 expression. (c) Western Blot densitometry analysis.

2.3 RSV 抑制高脂引起的皮下脂肪炎症反应

HFD 组小鼠皮下脂肪组织中,相关炎症因子的表达量明显上调了,包括 IL-6,IL-1 等,而 RSV 实验组,小鼠皮下脂肪中促炎因子 IL-6,IL-1 的表达量明显被抑制,同时抗炎因子 IL-10 的表达则被明显上调了。实验说明,RSV 不仅抑制高脂喂养引起的肥胖,也可以抑制由高脂引起的慢性低度炎症反应。

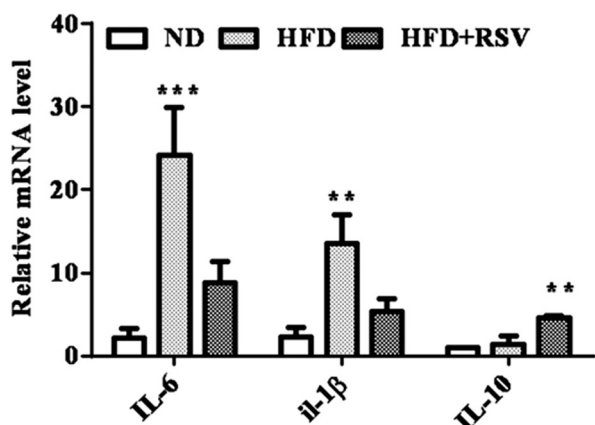


图3 白藜芦醇抑制高脂引起的脂肪炎症反应

Fig.3 RSV inhibited HFD-induced adipocyte inflammation

2.4 白藜芦醇促进皮下脂肪细胞棕色化

为了验证白藜芦醇对白色脂肪细胞的直接作用,体外提取分离皮下脂肪细胞,加入诱导分化培养基以及维持分化培养基,诱导其分化为成熟脂肪细胞(图 a),在细胞中加入不同浓度的 RSV (5,10,20,40 μ M),结果发现,RSV 处理可以诱导 UCP-1、PGC-1、PRDM16 等棕色脂肪标志蛋白和转录因子的 mRNA 的表达。同时,不同浓度的 RSV 还可以诱导抗炎因子 HO-1 的表达,表达呈现出剂量依赖性(图 b)。

2.5 白藜芦醇促进 UCP1 以及 HO-1 在皮下脂肪细胞的表达

肾上腺素是已经报道的具有促进白色脂肪棕色化的激素,

在体外分化成熟的皮下白色脂肪细胞中加入低浓度的肾上腺素(10 μ M),发现 UCP1 表达量明显增加,同时 HO-1 的表达也明显增加,说明 HO-1 表达的增加可能参与白色脂肪棕色化。另外,在体外分化成熟的皮下白色脂肪细胞中加入不同浓度的 RSV (5,10,20,40 μ M)可促进 UCP-1 以及 HO-1 蛋白水平的表达,增加趋势都呈现出剂量依赖性。实验说明 RSV 可以表现出与肾上腺素类似的作用,可以促进白色脂肪棕色化以及诱导抗炎因子 HO-1 的表达。

3 讨论

作为蒽醌萜类多酚化合物的代表物之一的白藜芦醇是近年来受到广泛关注的天然产物之一。已有研究报道白藜芦醇具有促进白色脂肪棕色化的潜在作用^[1],但其具体的作用机制仍不清楚。在相关理论研究的基础上,本实验建立了相应的高脂模型,研究白藜芦醇对高脂引起的肥胖以及慢性低度炎症的作用以及相关的作用机制。结果发现,白藜芦醇可以通过促进皮下脂肪的棕色化改善高脂引起的小鼠肥胖,同时可以通过促进抗炎、抗氧化蛋白 HO-1 的表达抑制高脂引起的慢性低度炎症反应,改善胰岛素的敏感性。

已经有研究报道,白藜芦醇作为 sirt1 的天然激动剂,能够促进 sirt1 的表达和活化,sirt1 是沉默信号调节因子 2(Silent information regulator 2, Sirt2)的同源基因。研究报道 Sirt1 可以通过调节过氧化物酶体增殖激活受体(Peroxisome proliferator activated receptor, PPAR)的去乙酰化反应促进脂肪储存箱产热消耗能量转化^[14]。PRDM16 是 PR 域 16 的蛋白,在棕色脂肪组织中的表达明显增加,可诱导 UCP-1 等棕色脂肪特异性基因的表达^[15]。PRDM16 作为棕色脂肪的标志基因,可与 PGC-1 和 PGC-1 相互作用促进棕色脂肪分化基因的表达。前期大量的研究都是基于正常状态的小鼠,对于白藜芦醇对高脂喂养小鼠是否也同样促进其棕色脂肪形成仍属未知。结果发现,在高脂引

起的肥胖小鼠中,作为代偿作用,UCP1 以及 PGC-1 的表达量都有略微上调,但并不显著,而在给予白藜芦醇后,UCP-1、

PGC-1 以及 PRDM16 的 mRNA 水平都有显著增加,蛋白水平 UCP-1 的表达量也明显增加。

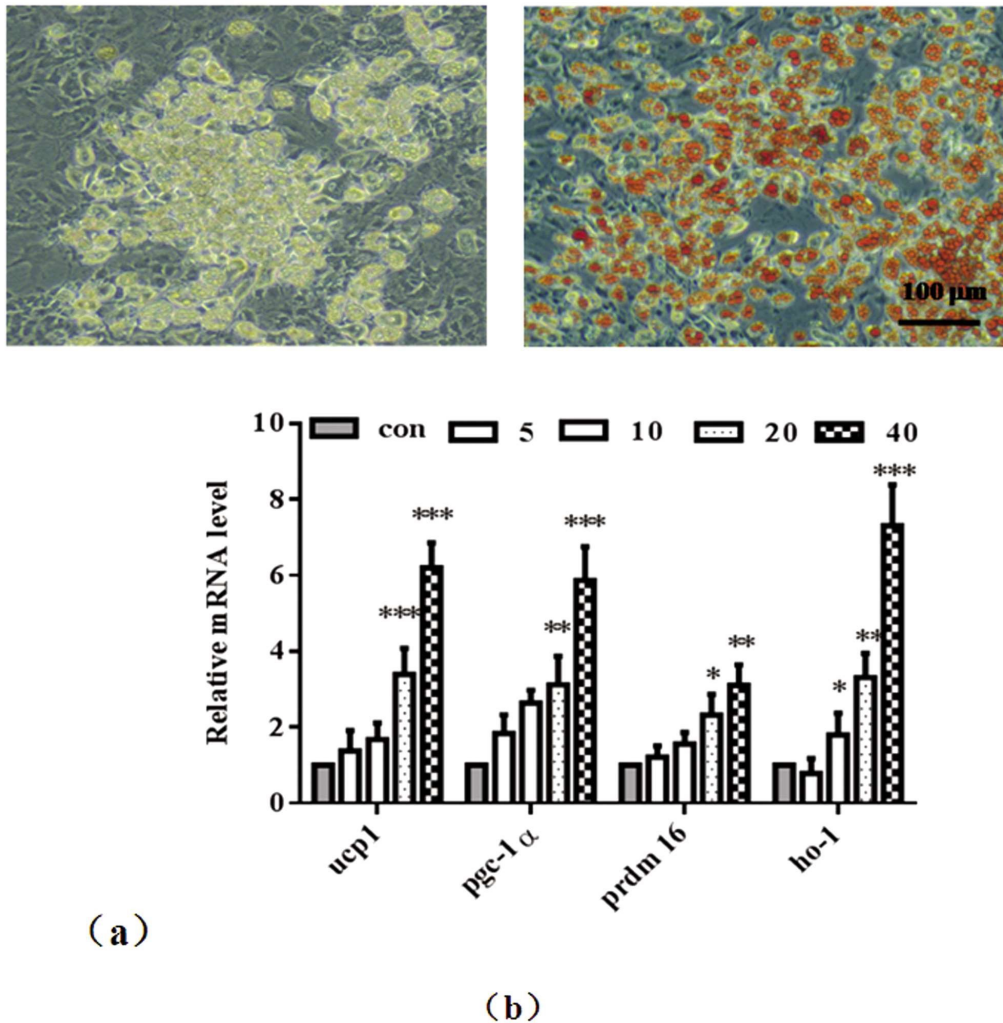


图 4 白藜芦醇在体外诱导棕色脂肪标志基因的表达。(a)小鼠皮下脂肪细胞成熟分化鉴定。(b)白藜芦醇对棕色脂肪标志基因以及 HO-1 表达的影响

Fig.4 RSV induced brown adipocyte gene expression in vitro. (a) Primary subcutaneous adipocyte differentiation. (b) Effects of RSV on brown adipocyte markers and HO-1 expression.

高脂喂养容易引起小鼠慢性低度炎症反应以及胰岛素抵抗。HO-1 作为具有抗炎、抗氧化作用蛋白,在多种细胞中都可以表达,并具有保护细胞的租用。但到目前为止,对 HO-1 在脂肪细胞中的具体作用仍不清楚。前期研究发现,PGC-1 可调控 HO-1 的表达,共同调控线粒体功能^[16]。作为类黄酮家族一员的紫柳因被报道可以通过诱导 HO-1 的表达抑制高脂喂养引起的慢性低度炎症以及脂肪细胞肥大,紫柳因可以通过这些作用减弱由高脂引起的糖耐量异常^[17]。与这些研究结果一致,我们研究发现白藜芦醇可以诱导 PGC-1 的表达,不仅在高脂喂养小鼠的皮下组织,也包括在体外分化成熟的皮下白色脂肪细胞中。同时,白藜芦醇也可以诱导 HO-1 的表达。提示,白藜芦醇对高脂引起的小鼠糖耐量异常以及胰岛素抵抗的改善作用与促进 HO-1 的表达有关。肾上腺素是已经被明确报道可以促进白色脂肪棕色化的激素,在寒冷情况下,棕色脂肪的含量会明显增加也与肾上腺素的释放有关。在体外的皮下白色脂肪中,加入低剂量的肾上腺素可以明显的增加 UCP-1 以及 HO-1 的

表达,也说明 UCP-1 与 HO-1 也许存在某种协同作用,但具体的作用机制还需进一步研究。

另外,肥胖还会增加氧化应激反应同时降低一些具有细胞保护作用的抗氧化基因的表达如 HO-1。氧化应激反应增加血红素(heme)的释放,自由状态下的 heme 会作为促氧化物增加活性氧自由基(ROS)的释放^[18]。诱导酶 HO-1 表达的增加可以有效的应对这些反应,这也与 HO-1 促进 heme 分解产生的副产物的协同作用有关。另外,相关报道也发现,在糖尿病动物中 HO-1 表达量的上调通过保护心脏和血管抵抗活性氧引起的损伤用以改善胰岛素抵抗以及代谢综合征^[19]。诱导 HO-1 的表达可有效的抑制脂肪的分化与抑制炎症因子的表达。在肥胖动物中,HO-1 在前脂肪细胞中表达量增加,而在分化和肥大的脂肪细胞中表达减少,用以重塑健康的脂肪细胞^[20]。同样,我们发现白藜芦醇可以诱导 HO-1 表达的同时抑制由高脂引起的皮下脂肪质量的增加,还有效抑制相关炎症因子的表达。

结语:肥胖可导致一系列的并发症,如脂肪肝、糖尿病和心

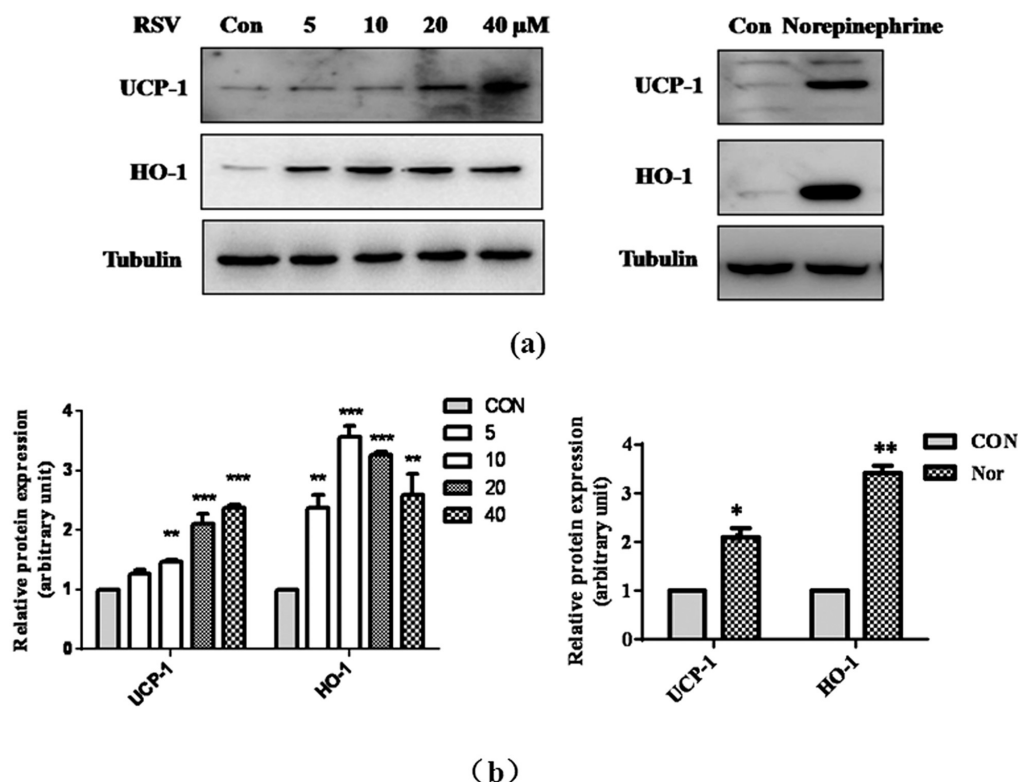


图5 白藜芦醇在皮下脂肪细胞中诱导 UCP-1、PGC-1 α 和 HO-1 的表达。(a)白藜芦醇和肾上腺素对 UCP-1 和 HO-1 表达的影响。(b)蛋白表达灰度值分析。

Fig.5 RSV increased UCP-1, PGC-1 α and HO-1 expression in subcutaneous adipocytes. (a) Effects of resveratrol and Norepinephrine on UCP-1 and HO-1 expression. (b) Western Blot densitometry analysis.

血管疾病的发生和发展。棕色脂肪一直是肥胖等相关代谢性疾病领域的研究热点。新近提出的白色脂肪细胞棕色化的概念,为棕色脂肪的研究提供了新的思路。本研究的结果发现,白藜芦醇作为类黄酮类的重要成员之一,可以通过促进 UCP-1 和 HO-1 在皮下脂肪的表达有效的抑制高脂引起的肥胖、慢性低度炎症糖耐量异常以及胰岛素抵抗。本研究发现为显著提高机体的能量消耗,改善机体糖脂代谢寻找新的靶点,从而为治疗肥胖提供新的治疗方案。

参考文献(References)

- [1] Wyatt SB, Winters KP, Dubbert PM. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem [J]. The American journal of the medical sciences, 2006, 331 (4): 166-174
- [2] Yang X, Ruan HB. Neuronal Control of Adaptive Thermogenesis[J]. Frontiers in endocrinology, 2015, 6: 149
- [3] Van der Lans AA, Hoeks J, Brans B, et al. Cold acclimation recruits human brown fat and increases nonshivering thermogenesis [J]. The Journal of clinical investigation, 2013, 123(8): 3395-3403
- [4] Vieira-Potter VJ. Inflammation and macrophage modulation in adipose tissues[J]. Cellular microbiology, 2014, 16(10): 1484-1492
- [5] Shehzad A, Ha T, Subhan F, et al. New mechanisms and the anti-inflammatory role of curcumin in obesity and obesity-related metabolic diseases[J]. European journal of nutrition, 2011, 50(3): 151-161
- [6] Kim HP, Pae HO, Back SH, et al. Heme oxygenase-1 comes back to endoplasmic reticulum [J]. Biochemical and biophysical research communications, 2011, 404(1): 1-5
- [7] Chung HT, Choi BM, Kwon YG, et al. Interactive relations between nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO): heme oxygenase-1/CO pathway is a key modulator in NO-mediated antiapoptosis and anti-inflammation[J]. Methods in enzymology, 2008, 441: 329-338
- [8] Carter LG, D'Orazio JA, Pearson KJ. Resveratrol and cancer: focus on in vivo evidence[J]. Endocrine-related cancer, 2014, 21(3): R209-225
- [9] Aguirre L, Fernandez-Quintela A, Arias N, et al. Resveratrol: anti-obesity mechanisms of action[J]. Molecules, 2014, 19(11): 18632-18655
- [10] Kelly G. A review of the sirtuin system, its clinical implications, and the potential role of dietary activators like resveratrol: part 1[J]. Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic, 2010, 15(3): 245-263
- [11] Wang S, Liang X, Yang Q, et al. Resveratrol induces brown-like adipocyte formation in white fat through activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) α 1 [J]. International journal of obesity, 2015, 39(6): 967-976
- [12] Cicero AF, Colletti A. Role of phytochemicals in the management of metabolic syndrome [J]. Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology, 2016, 23(11): 1134-1144
- [13] Son Y, Chung HT, Pae HO. Differential effects of resveratrol and its natural analogs, piceatannol and 3,5,4'-trans-trimethoxystilbene, on anti-inflammatory heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages[J]. BioFactors, 2014, 40(1): 138-145
- [14] Qiang L, Wang L, Kon N, et al. Brown remodeling of white adipose tissue by SirT1-dependent deacetylation of Ppargamma[J]. Cell, 2012, 150(3): 620-632

- Oldenlandia pinifolia and their antiproliferative activities[J]. Nat Prod Res, 2017, 6: 1-7
- [11] Wajima T, Anzai Y, Yamada T, et al. Oldenlandia diffusa Extract Inhibits Biofilm Formation by Haemophilus influenzae Clinical Isolates [J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0167335
- [12] Chung TW, Choi H, Lee JM, et al. Oldenlandia diffusa suppresses metastatic potential through inhibiting matrix metalloproteinase-9 and intercellular adhesion molecule-1 expression via p38 and ERK1/2 MAPK pathways and induces apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells[J]. J Ethnopharmacol, 2017, 4(195): 309-317
- [13] Lu PH, Chen MB, Ji C, et al. Aqueous Oldenlandia diffusa extracts inhibits colorectal cancer cells via activating AMP-activated protein kinase signaling[J]. Oncotarget, 2016, 7(29): 45889-45900
- [14] Lee S, Shim JH, Gim H, et al. Ethanol Extract of Oldenlandia diffusa - an Effective Chemotherapeutic for the Treatment of Colorectal Cancer in Humans: -Anti-Cancer Effects of Oldenlandia diffusa [J]. J Pharmacopuncture, 2016, 19(1): 51-58
- [15] Sunwoo YY, Lee JH, Jung HY, et al. Oldenlandia diffusa Promotes Antiproliferative and Apoptotic Effects in a Rat Hepatocellular Carcinoma with Liver Cirrhosis[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015: 501-508
- [16] Liang Z, He M, Fong W, et al. Comparable, chemical and pharmacological analysis of the traditional Chinese medicinal herbs Oldenlandia diffusa and O. corymbosa and a new valuation of their biological potential[J]. Phytomedicine, 2008, 15(4): 259-267
- [17] Ganbold M, Barker J, Ma R, et al. Cytotoxicity and bioavailability studies on a decoction of Oldenlandia diffusa and its fractions separated by HPLC[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 131(2): 396-403
- [18] Wang C H, Yao H, Chen L N, et al. CD147 induces angiogenesis through a vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible transcription factor 1 α -mediated pathway in rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(6): 1818-1827
- [19] Groh A, Jahn K, Burkert A, et al. Epigenetic Regulation of the Promotor Region of Vascular Endothelial Growth Factor-A and Nerve Growth Factor in Opioid-Maintained Patients [J]. Eur Addict Res, 2017, 23(5): 249-259
- [20] Benlahfid M, Traboulsi W, Sergent F, et al. Endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor (EG-VEGF) and its receptor PROKR2 are associated to human colorectal cancer progression and peritoneal carcinomatosis [J]. Cancer Biomark, 2017, Nov 28[Epub ahead of print]
- [21] Lodola F, Laforenza U, Cattaneo F, et al. VEGF-induced intracellular Ca²⁺ oscillations are down-regulated and do not stimulate angiogenesis in breast cancer-derived endothelial colony forming cells [J]. Oncotarget, 2017, 8(56): 95223-95246
- [22] Li L, Wang L, Zhang W, et al. Correlation of serum VEGF levels with clinical stage, therapy efficacy, tumor metastasis and patient survival in ovarian cancer [J]. Anticancer Res, 2004, 24(3b): 1973-1979
- [23] Ueda M, Terai Y, Kumagai K, et al. Vascular endothelial growth factor C gene expression is closely related to invasion phenotype in gynecological tumor cell lines[J]. Gynecol Oncol, 2001, 82(1): 162-166
- [24] Lippitz BE. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review[J]. Lancet Oncol, 2013, 14(6): 218-228
- [25] Garcia Roman J, Zentella Dehesa A. Vascular permeability changes involved in tumor metastasis[J]. Cancer Lett, 2013, 335(2): 259-269

(上接第 2823 页)

- [15] Kodo K, Sugimoto S, Nakajima H, et al. Erythropoietin (EPO) ameliorates obesity and glucose homeostasis by promoting thermogenesis and endocrine function of classical brown adipose tissue (BAT) in diet-induced obese mice[J]. PLoS one, 2017, 12(3): e0173661
- [16] Singh SP, Schragenheim J, Cao J, et al. PGC-1 α regulates HO-1 expression, mitochondrial dynamics and biogenesis: Role of epoxyeicosatrienoic acid [J]. Prostaglandins & other lipid mediators, 2016, 125: 8-18
- [17] Wang Z, Ka SO, Lee Y, et al. Butein induction of HO-1 by p38 MAPK/Nrf2 pathway in adipocytes attenuates high-fat diet induced adipose hypertrophy in mice [J]. European journal of pharmacology, 2017, 799: 201-210
- [18] Huang JY, Chiang MT, Yet SF, et al. Myeloid heme oxygenase-1 haploinsufficiency reduces high fat diet-induced insulin resistance by affecting adipose macrophage infiltration in mice [J]. PLoS one, 2012, 7(6): e38626
- [19] Kim DH, Burgess AP, Li M, et al. Heme oxygenase-mediated increases in adiponectin decrease fat content and inflammatory cytokines tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in Zucker rats and reduce adipogenesis in human mesenchymal stem cells [J]. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 2008, 325(3): 833-840
- [20] Li M, Kim DH, Tsenovoy PL, et al. Treatment of obese diabetic mice with a heme oxygenase inducer reduces visceral and subcutaneous adiposity, increases adiponectin levels, and improves insulin sensitivity and glucose tolerance[J]. Diabetes, 2008, 57(6): 1526-1535