

大黄素对 ApoE 基因敲除小鼠脂肪棕色化的影响

程 龙,董世芬,袁悦莹,马 丹,宋敬怡,孙建宁,张硕峰*

(北京中医药大学中药学院中药药理系,北京 100029)

【摘要】 目的 观察大黄素(emodin)对载脂蛋白 E 基因敲除(apolipoprotein E knockout, ApoE^{-/-})小鼠脂肪棕色化的影响,从而探讨其改善高脂血等血瘀状态的作用机制。**方法** 雄性 8 周龄 ApoE^{-/-} 小鼠高脂饮食 12 周后,随机分为 3 组,模型组、辛伐他汀 5.7 mg/kg 组、大黄素 80 mg/kg 组;同周龄雄性 C57BL/6J 小鼠为正常对照组,给予基础饲料喂养。各组小鼠按剂量分别灌胃相应药物或者饮用水干预 18 周。检测指标包括体重(body weight, BW)、腹股沟白色脂肪组织(inguinal white adipose tissue, iWAT)重量、棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)重量、血脂、心功能、iWAT 病理特征,以及解偶联蛋白 1(uncoupling protein 1, UCP1)的 iWAT 原位表达。**结果** 大黄素可显著降低小鼠体重($P < 0.05$)、iWAT 重量/体重比值($P < 0.05$)及血清中 TC、TG 含量($P < 0.05$),增加 BAT 重量/体重比值($P < 0.05$)及心脏的射血分数(ejection fraction, EF)、短轴缩短率(fractional shortening, FS) ($P < 0.01$);HE 染色结果显示, iWAT 细胞出现多室,细胞变小、变圆,组织更加致密;免疫组化结果显示, iWAT 中 UCP1 蛋白阳性表达的平均光密度(average optical density, AOD)显著增加($P < 0.01$)。**结论** 大黄素能促进 ApoE^{-/-} 小鼠腹股沟白色脂肪组织棕色化及减少白色脂肪堆积改善高脂血症症状,可能与其逐瘀作用有关。

【关键词】 大黄素;载脂蛋白 E 基因敲除小鼠;白色脂肪;棕色脂肪

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 11-0008-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.11.002

Effect of emodin on adipose browning in ApoE knockout mice

CHENG Long, DONG Shifen, YUAN Yueying, MA Dan, SONG Jingyi, SUN Jianning, ZHANG Shuofeng*

(Department of Pharmacology of Traditional Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

【Abstract】 Objective To observe the effect of emodin (1,3,8-trihydroxy-6-methyl anthraquinone) on adipose browning in ApoE knockout mice and explore its potential mechanism to improve the blood stasis status such as hyperlipemia. **Methods** Male 8-week-old ApoE knockout mice were randomly divided into three groups, model, 5.7 mg/kg simvastatin, and 80 mg/kg emodin groups, and fed a high fat diet. C57BL/6J control mice were fed a normal diet. The mice in each group were intragastrically administered with drugs or drinking water for 18 consecutive weeks. Parameters, including body weight, inguinal white adipose tissue (iWAT) mass, brown adipose tissue (BAT) mass, blood lipids, pathological features of iWAT histology, and in situ uncoupling protein 1 (UCP1) expression in iWAT, were observed. **Results** Compared with the model group, the body weight, ratio of inguinal white adipose tissue weight/body weight ($P < 0.05$), and blood TC and TG were decreased significantly ($P < 0.05$), while the ratio of brown adipose tissue weight/body weight, EF, and FS ($P < 0.01$) were increased significantly in the emodin group ($P < 0.05$). Histological examination using HE staining of iWAT showed that the cells had multiple compartments and became smaller and round,

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81503287,81430094)。

【作者简介】 程龙(1992—),男,硕士研究生,研究方向:中药防治心脑血管疾病的研究。E-mail: tenacious@bucm.edu.cn

【通信作者】 张硕峰(1969—),副教授,男,硕士生导师,研究方向:中药防治心脑血管疾病的研究。E-mail: shuofengzhang@sina.com

and the tissue became more dense with morphological characteristics of brown adipose tissue. Immunohistochemistry showed that the AOD of UCPI in iWAT was increased significantly ($P < 0.01$). **Conclusions** Emodin may improve the symptoms of hyperlipemia by promoting browning of inguinal white adipose tissue and reducing white fat accumulation in ApoE knockout mice, which may be related to the effect of zhuyu.

[Keywords] emodin; ApoE knockout mice; white adipose tissue; brown adipose tissue

肥胖是一种多因素引起的慢性代谢疾病,是引发糖尿病、动脉粥样硬化、高脂血症等相关疾病的主要因素,肥胖的发生与血瘀相关,活血化瘀方药在治疗肥胖过程中取得良好疗效^[1-3]。哺乳动物的脂肪组织主要由储脂为主的白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT) 与产热为主的棕色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT) 组成。肥胖发生时,体内白色脂肪组织与棕色脂肪组织比例失衡,白色脂肪组织过度堆积或分布异常。中医学认为肥胖是由于多种因素导致体内膏脂堆积过多,进而引发脾虚气亏、瘀血、气滞、痰湿等证候特征。研究表明,白色脂肪棕色化及活化棕色脂肪能增加机体产热,调节能量代谢,是肥胖治疗的有效环节之一^[4-5]。

大黄来源于蓼科植物掌叶大黄 (*Rheum palmatum* L)、唐古特大黄 (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf) 或药用大黄 (*Rheum officinale* Baill) 的干燥根及根茎,性苦、寒,具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经、利湿退黄之功效^[6],具有降血脂、抗氧化、抗炎等作用^[7-8]。大黄素 (emodin), 学名 1,3,8-三羟基-6-甲基蒽醌 (1,3,8-trihydroxy-6-methylantraquinone), 是大黄的主要有效成分之一,为蒽醌类衍生物,具有降血糖及降血脂^[9]、抗衰老^[10]、抗炎^[11] 等药理作用。研究发现,大黄素可以降低高脂饮食诱导的肥胖模型大鼠体重、血脂水平、动脉粥样硬化指数,减少白色脂肪中脂质聚集和减小白色脂肪细胞直径,改善能量代谢紊乱^[12]。ApoE 基因敲除小鼠因载脂蛋白 E 基因缺失,易出现脂质代谢异常和白色脂肪堆积,是研究肥胖及相关代谢疾病的较佳模型^[13-14]。因此,本研究以 ApoE 基因敲除小鼠为研究对象,观察大黄素对 ApoE 基因敲除小鼠脂肪棕色化的影响,探讨其治疗肥胖等血瘀状态的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

8 周龄 SPF 级雄性 ApoE^{-/-} 小鼠 24 只,具有相同遗传背景且同周龄的 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 8 只,体重 (20 ± 2) g,由南京大学模式动物研究所

提供 [SCXK (苏) 2015 - 0001], 合格证号: 201606277。所有小鼠饲养于北京中医药大学屏障环境动物实验室 [SYXK (京) 2016 - 0038], 室温 (25 ± 2) °C、45% 相对湿度,12 h/12 h 光暗周期,饲养期间小鼠自由进食及饮水,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀,本研究由北京中医药大学医学与实验动物伦理委员会审批准,编号: BUCM-4-2016121001-4020。

1.2 主要试剂与仪器

大黄素 (emodin), 购于北京华威锐科化工有限公司,纯度为 98%, 批号 16HC0215-2; 辛伐他汀, 购于杭州默沙东制药有限公司, 批号 M029946; 基础饲料及高脂饲料, 购于北京科澳协力有限公司 [SCXK (京) 2014 - 0010]; 总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 试剂盒均由贝克曼库尔特实验系统实验系统 (苏州) 有限公司提供, 批号分别为 AUZ4678、AUZ3692、AUZ4573、AUZ4289; UCPI 抗体购于 Abcam 公司, 批号 GR3188478-6; 山羊抗兔二抗购于无锡傲锐东源生物科技有限公司, 批号 K172414D。半自动轮转式切片机 (RM2245, 德国徕卡 (Leica) 仪器有限公司); 全自动真空脱水机 (ASP3005, 德国徕卡 (Leica) 仪器有限公司); 分体式包埋机 (EG1150, 德国徕卡 (Leica) 仪器有限公司); 多功能染色盖片工作站 (ST5020/CV5030, 德国徕卡 (Leica) 仪器有限公司); 正置智能型显微镜 (BX53, 奥林巴斯 (中国) 有限公司); 全自动生化分析仪 (CX4 Pro, 美国贝克曼公司); 小动物超声影像系统 (Vevo TM 2100, 加拿大 Visual Sonics 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物造模、分组及给药

ApoE^{-/-} 小鼠小鼠喂食高脂饲料 (77.5% 的基础饲料, 1.5% 胆固醇, 21% 猪油) 12 周, 之后随机分为 3 组, 即 ApoE^{-/-} 模型组、辛伐他汀 5.7 mg/kg 组、大黄素 80 mg/kg 组, 每组 8 只。C57BL/6J 小鼠为正常对照组, 全程喂食普通饲料。模型组和给药

组小鼠持续喂食高脂饲料至实验结束。小鼠至 13 周开始给药,模型组和正常对照组每日给予相同溶媒(饮用水)灌胃,辛伐他汀和大黄素分别按照 5.7 mg/kg、80 mg/kg 剂量^[15]灌胃给药,给药体积为 0.1 mL/10 g,连续干预 18 周,每周记录各组小鼠体重。

1.3.2 心功能指标检测

将小鼠气体麻醉、剃毛,用小动物超声影像系统检测小鼠心脏的射血分数(EF)、短轴缩短率(FS)。

1.3.3 取材

干预 18 周后,禁食 12 h,称取小鼠体重,取血约 1.5 mL,3500 r/min,离心 10 min,分离血清。取血后,解剖分离皮下腹股沟白色脂肪及肩胛区棕色脂肪,并称重,腹股沟白色脂肪组织放在 10% 中性福尔马林固定液中固定。

1.3.4 脂肪重量/体重的测定

精确称重小鼠皮下腹股沟白色脂肪重量、肩胛部棕色脂肪重量,计算腹股沟白色脂肪重量(iWAT)/体重(WB)和肩胛区棕色脂肪重量(BAT)/体重(WB)的比值。

1.3.5 血脂的检测

按照说明,采用生化试剂盒测定血清中 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 的含量。

1.3.6 腹股沟白色脂肪 HE 染色

将固定在 10% 中性福尔马林固定液中的腹股沟白色脂肪取出,常规石蜡包埋;切片;切片用二甲苯脱蜡,经各级乙醇至水洗;苏木素液染色;水洗;盐酸乙醇分色;自来水浸泡;伊红染色;自来水冲洗;常规脱水;透明;封片;正置智能显微镜观察脂肪细胞形态学变化。

1.3.7 腹股沟白色脂肪免疫组织化学染色

组织切片常规脱蜡、脱水;抗原修复;阻断内源性过氧化物酶;封闭;加 UCP1 一抗 4℃ 过夜;过夜后,PBS 清洗,滴加二抗;DAB 显色;终止显色后苏木素复染,流水返蓝;常规脱水;透明;中性树胶封片。棕黄色着色即为阳性细胞抗原存在位置。

1.3.8 腹股沟白色脂肪组织 UCP1 蛋白表达的影响

使用图像分析软件(Image-Pro Plus 6.0),选取棕黄色处为阳性着色,对阳性表达处进行 AOD 分析。

1.4 统计学方法

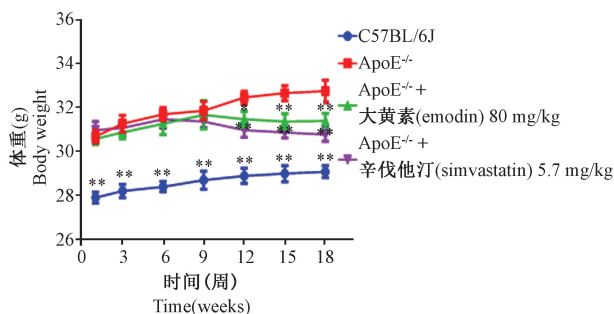
实验数据采用 SAS 8.2 软件进行统计,结果用平

均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间数据比较采用单因素方差分析法(one-way ANOVA),两组间比较采用独立样本 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠体重的影响

如图 1 所示,在整个实验期间,与正常对照组比较,ApoE^{-/-} 小鼠体重显著增加($P < 0.01$);与 ApoE^{-/-} 模型组比较,自给药第 12 周开始至实验结束,大黄素组、辛伐他汀组小鼠体重显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



注:与 ApoE^{-/-} 模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 1 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠体重的影响

Note. Compared with the ApoE^{-/-} model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 1 Effect of emodin on body weight of the ApoE^{-/-} mice

2.2 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠脂肪重量/体重比值的影响

如图 2A、2B 所示,与正常对照组比较,ApoE^{-/-} 模型组小鼠皮下腹股沟白色脂肪组织(iWAT)重量/体重(BW)的比值显著降低($P < 0.01$),棕色脂肪组织(BAT)重量/体重(BW)的比值显著降低($P < 0.01$);与 ApoE^{-/-} 模型组相比,大黄素组、辛伐他汀组小鼠 iWAT/BW 显著降低($P < 0.05$),BAT/BW 的比值显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.3 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠血清 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平的影响

如图 3 所示,与正常对照组比较,ApoE^{-/-} 模型组小鼠血清中 TG、TC、LDL-C 含量显著升高($P < 0.01$),HDL-C 含量差异无显著性($P > 0.05$);与 ApoE^{-/-} 模型组比较,大黄素组小鼠血清中 TG、TC 含量显著降低($P < 0.05$);LDL-C 含量具有降低趋势,HDL-C 含量增加,但差异均无显著性($P > 0.05$);辛伐他汀组小鼠血清中 TG、TC、LDL-C 含量显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),HDL-C 含量显

著增加($P < 0.05$)。

2.4 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠心脏的射血分数、短轴缩短率的影响

如图 4A、4B 所示,与正常对照组比较,ApoE^{-/-} 模型组小鼠心脏的 EF、FS 百分率显著降低($P < 0.05$),提示心功能损伤;与 ApoE^{-/-} 模型组比较,大黄素组、辛伐他汀组小鼠心脏的 EF、FS 百分率显著增加($P < 0.01$)。

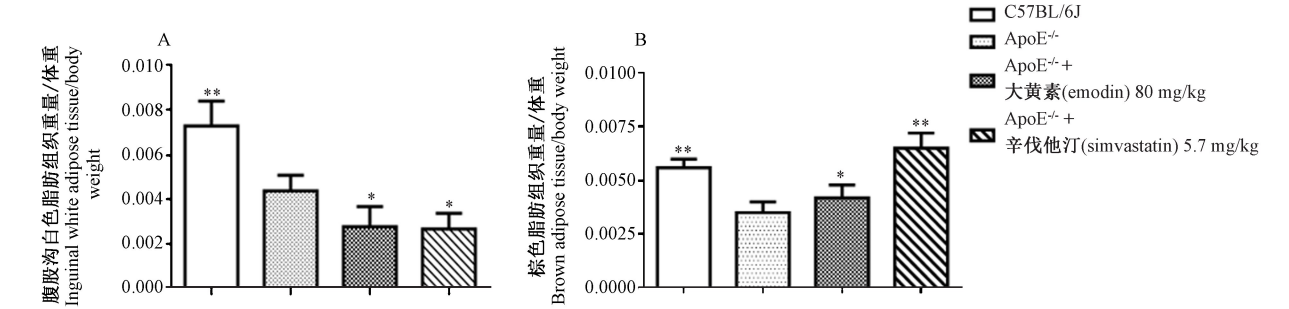
2.5 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠皮下腹股沟白色脂肪组织形态的影响

如图 5 所示,正常对照组小鼠腹股沟白色脂肪呈现出较大空泡状,形状近似圆形,组织比较致密

(图 5A);ApoE^{-/-} 模型组小鼠皮下腹股沟白色脂肪呈现出大空泡的脂肪室,且形状不规则,细胞核、细胞器及胞浆被挤到一侧呈薄环,白色脂肪特征明显(图 5B);与模型组相比,大黄素组(图 5C)、辛伐他汀组(图 5D)小鼠皮下腹股沟白色脂肪细胞出现多室,细胞变小、变圆,组织变的更加致密,具有棕色化趋势。

2.6 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠 iWAT 部位 UCP1 蛋白表达的影响

观察小鼠腹股沟白色脂肪组织免疫组织化学染色切片,棕黄色着色即为阳性细胞抗原存在位置。与 ApoE^{-/-} 模型组比较(图 6B),大黄素组(图

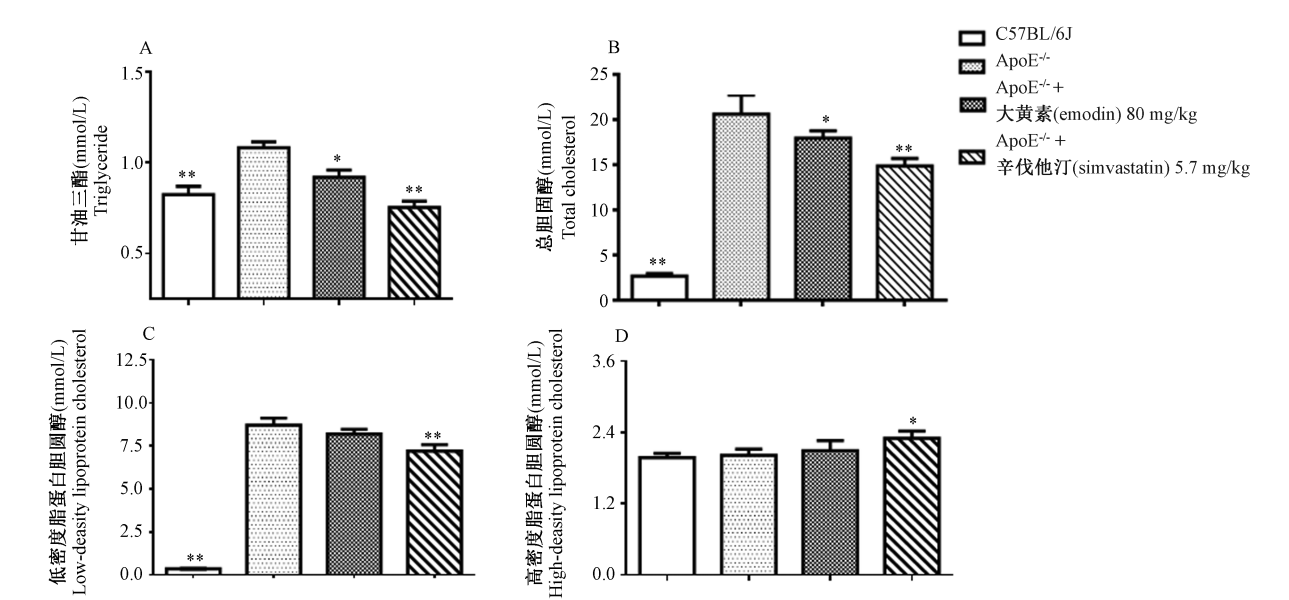


注:与 ApoE^{-/-} 模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 2 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠脂肪重量/体重比值的影响

Note. Compared with the ApoE^{-/-} model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 2 Effect of emodin on fat weight/body weight ratio in the ApoE^{-/-} mice

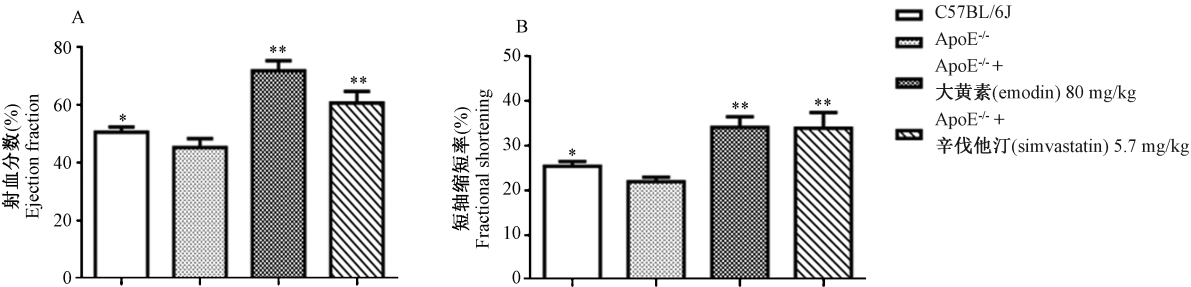


注:与 ApoE^{-/-} 模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 3 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平的影响

Note. Compared with the ApoE^{-/-} model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 3 Effects of emodin on the levels of serum TG, TC, LDL-C, and HDL-C in the ApoE^{-/-} mice

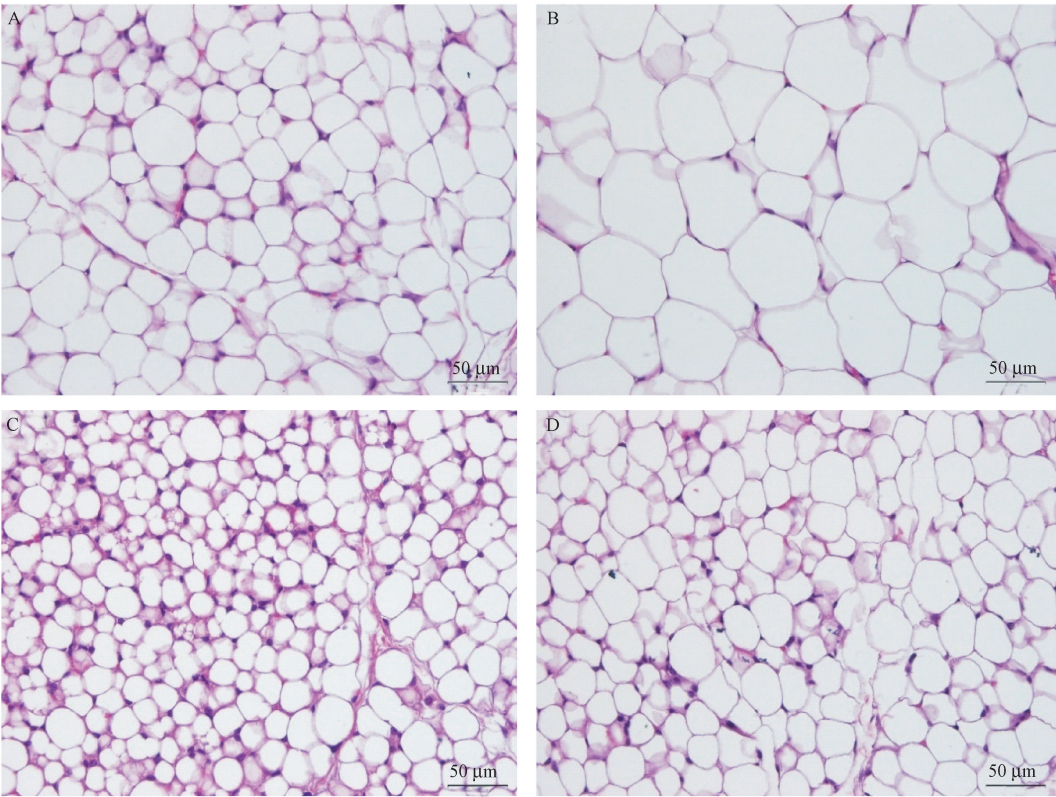


注:与 ApoE^{-/-} 模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 4 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠心脏 EF、FS 的影响

Note. Compared with the ApoE^{-/-} model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 4 Effect of emodin on changes of heart EF and FS in the ApoE^{-/-} mice



注:A:正常对照组;B:ApoE^{-/-} 模型组;C:大黄素 80 mg/kg 组;D:辛伐他汀 5.7 mg/kg 组。

图 5 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠腹股沟白色脂肪组织形态的影响(HE 染色, $\times 400$)

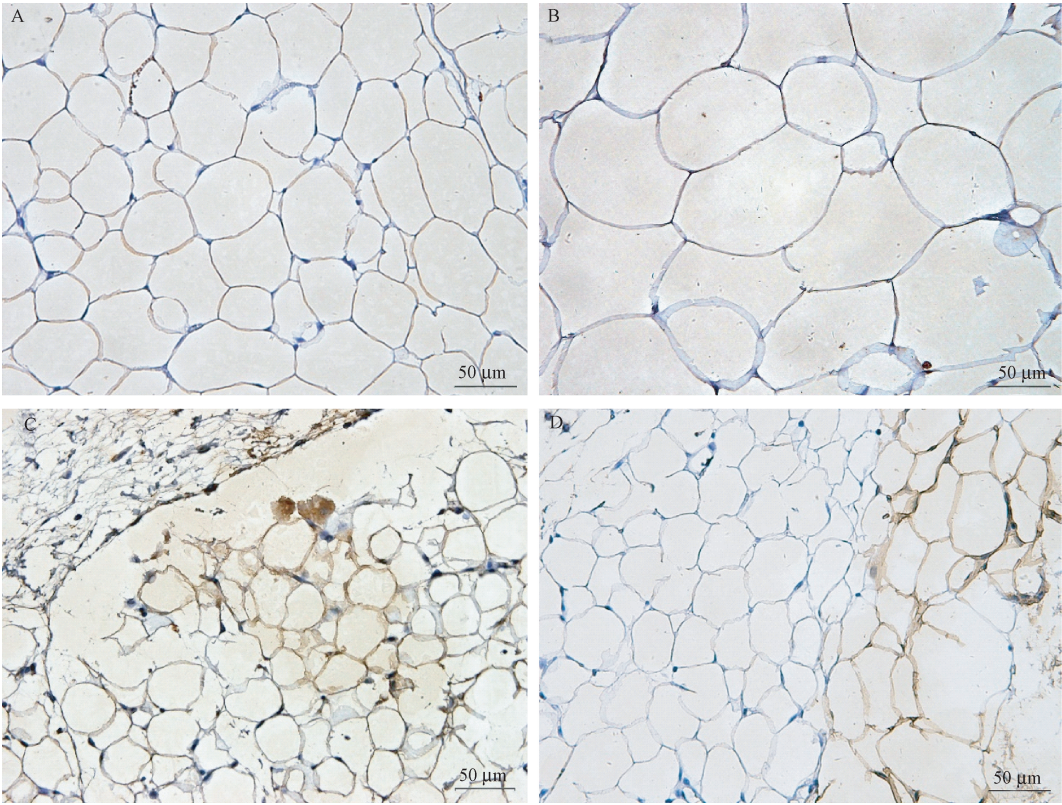
Note. A: Control group; B: ApoE^{-/-} model group; C: 80 mg/kg emodin group; D: 5.7 mg/kg simvastatin group.

Figure 5 Effect of emodin on the histology of white adipose tissue in the inguinal region of ApoE^{-/-} mice. HE staining

6C)、辛伐他汀组(图 6D) iWAT 中 UCP-1 阳性表达显著。利用 Image-Pro Plus 6.0 对其 AOD 进行分析。图 7 结果显示,与正常对照组比较, ApoE^{-/-} 模型组小鼠皮下股沟脂肪组织 AOD 的值降低,但差异无显著性($P > 0.05$);与 ApoE^{-/-} 模型组比较, 大黄素组、辛伐他汀小鼠皮下腹股沟脂肪组织 AOD 的值显著增加($P < 0.01$),进一步提示其增加 iWAT 脂肪细胞棕色化特征。

3 讨论

哺乳动物的脂肪组织主要由白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT) 与棕色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT) 组成。WAT 不仅是能量储存的器官,同时也是重要的内分泌器官,可通过内分泌及旁分泌众多细胞因子或脂肪因子影响机体的糖脂代谢平衡、血压水平、炎症反应等,与血瘀证包括高血

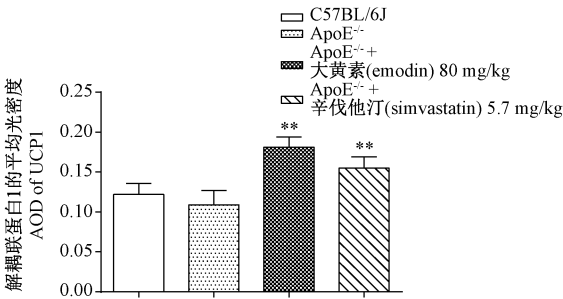


注:A:正常对照组;B:ApoE^{-/-}模型组;C:大黄素 80 mg/kg 组;D:辛伐他汀 5.7 mg/kg 组。

图 6 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠皮下腹股沟白色脂肪组织 UCP1 免疫组织化学染色影响(× 400)

Note. A: Control group; B: ApoE^{-/-} model group; C: 80 mg/kg emodin group; D: 5.7 mg/kg simvastatin group.

Figure 6 Effect of emodin on immunohistochemical staining of UCP-1 in white adipose tissue of the ApoE^{-/-} mice



注:与 ApoE^{-/-} 模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 7 大黄素对 ApoE^{-/-} 小鼠皮下腹股沟白色脂肪组织 UCP1 蛋白表达 AOD 的影响

Note. Compared with the ApoE^{-/-} model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 7 Effect of emodin on the protein expression of UCP1 in the inguinal white adipose tissue of ApoE^{-/-} mice

糖、高血压、高脂血症、动脉粥样硬化等的发生、发展密切相关。BAT 的细胞主要由多泡脂肪构成,其细胞内含有大量线粒体,主要功能是消耗脂肪并发挥非颤抖产热作用^[16]。BAT 的线粒体中含有特异性载体蛋白即 UCP1。UCP1 可以将 H⁺ 从线粒体内膜渗漏到

线粒体基质中,减少 ADP 磷酸化形成 ATP,将能量以热能的形式散失^[17]。研究证实,当机体交感神经兴奋时(如冷刺激^[18]、 β -肾上腺素受体激动^[19]),皮下白色脂肪组织中 UCP1 表达显著增加,出现 BAT 的典型特征,如许多散在的小脂滴、线粒体数目增多、棕色脂肪的标志基因[如诱导细胞死亡 DNA 片段化因子 α 样效应因子 (cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha like effector, CIDE)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子-1 α (peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α)、PR 结构域蛋白 16 (positive regulatory domain-containing 16, PRDM16) 等]表达增多等,与血糖、血脂调控和体重减轻有关。

大黄素能降低高脂饮食诱导小鼠的体重及血脂,减少白色脂肪组织的堆积,增强胰岛素敏感性,抑制高脂饮食诱导的肥胖和改善相关代谢疾病的紊乱^[20-22]。本研究发现大黄素能显著降低高脂饮食 ApoE 基因敲除小鼠体重 ($P < 0.05$)、白色脂肪重量/体重比值 ($P < 0.05$) 以及血清中 TG 和 TC 含量 ($P < 0.05$),同时其能显著增加棕色脂肪重

量/体重比值($P < 0.05$)及左心室的射血分数和短轴缩短率($P < 0.01$),具有减少白色脂肪堆积、改善脂质代谢和心功能的作用此外,在脂肪棕色化过程中,小鼠腹股沟白色脂肪比附睾脂肪更加容易转化^[23]。通过对各组小鼠皮下腹股沟白色脂肪组织 HE 染色发现,与 ApoE^{-/-} 模型组比较,大黄素组小鼠腹股沟白色脂肪出现典型的棕色脂肪细胞表型(如细胞出现多室,细胞变小、变圆等)。已有报道证实大黄素可通过增强腺嘌呤核糖核苷酸活化蛋白激酶的磷酸化及其主要下游靶向乙酰辅酶 A 羧化酶,上调肉毒碱棕榈酰转移酶 1 的基因表达,下调甾醇调节元件结合蛋白 1,进而减少白色脂肪组织中的脂质积累^[12]。本研究结果显示,大黄素可显著增加 ApoE^{-/-} 小鼠腹股沟白色脂肪组织 UCP1 蛋白表达,进一步明确其促进白色脂肪棕色化的作用。

综上所述,大黄素可通过降低 ApoE 基因敲除小鼠体重、血清中甘油三酯、总胆固醇及低密度脂蛋白胆固醇含量和白色脂肪重量/体重比值,减少白色脂肪堆积,同时增加棕色脂肪重量/体重比值、左心室的射血分数和短轴缩短率和皮下腹股沟白色脂肪组织 UCP1 蛋白的表达,促进 ApoE 基因敲除小鼠皮下腹股沟白色脂肪棕色化,从而有效抑制肥胖,可能与其逐瘀作用有关。

参考文献:

- [1] Kim SH, Park HS, Hong MJ, et al. Tongqiaohuoxue decoction ameliorates obesity-induced inflammation and the prothrombotic state by regulating adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 4(192): 201–209.
- [2] Hong M, Jung J, Park HS, et al. Shaofu Zhuyu decoction ameliorates obesity-mediated hepatic steatosis and systemic inflammation by regulating metabolic pathways [J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0178514.
- [3] 陈贵海, 杨仕权, 邓巍, 等. 活血化瘀方药对肥胖大鼠脂肪组织内脂素等 mRNA 表达与血清浓度的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(2): 625–628.
- [4] Vargas-Castillo A, Fuentes-Romero R, Rodriguez-Lopez LA, et al. Understanding the biology of thermogenic fat: Is browning a new approach to the treatment of obesity? [J]. Arch Med Res, 2017, 48(5): 401–413.
- [5] Morimoto H, Mori J, Nakajima H, et al. Angiotensin 1-7 stimulates brown adipose tissue and reduces diet-induced obesity [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2018, 314(2): E131–E138.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 22.
- [7] 王志旺, 郭玫, 马丹, 等. 不同产地大黄对高脂血症大鼠血脂及抗氧化作用的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2015, 31(3): 278–281.

- [8] 王志旺, 郭玫, 马丹, 等. 甘南栽培唐古特大黄抗炎作用及机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1): 158–161.
- [9] Zhao XY, Qiao GF, Li BX, et al. Hypoglycaemic and hypolipidaemic effects of emodin and its effect on L-type calcium channels in dyslipidaemic-diabetic rats [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2009, 36(1): 29–34.
- [10] Zhao X, Lu L, Qi Y, et al. Emodin extends lifespan of *Caenorhabditis elegans* through insulin/IGF-1 signaling pathway depending on DAF-16 and SIR-2.1 [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2017, 81(10): 1908–1916.
- [11] Park SY, Jin ML, Ko MJ, et al. Anti-neuroinflammatory effect of emodin in LPS-stimulated microglia: involvement of AMPK/Nrf2 activation [J]. Neurochem Res, 2016, 41(11): 2981–2992.
- [12] Tzeng TF, Lu HJ, Liou SS, et al. Emodin protects against high-fat diet-induced obesity via regulation of AMP-activated protein kinase pathways in white adipose tissue [J]. Planta Med, 2012, 78(10): 943–950.
- [13] 康爱君, 田枫, 张阔, 等. 载脂蛋白 E 基因缺陷 (C57BL/6J-ApoE) 小鼠血脂及病理组织学观察 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(2): 85–88.
- [14] Wagner T, Bartelt A, Schlein C, et al. Genetic dissection of tissue-specific apolipoprotein E function for hypercholesterolemia and diet-induced obesity [J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0145102.
- [15] Li J, Ding L, Song B, et al. Emodin improves lipid and glucose metabolism in high fat diet-induced obese mice through regulating SREBP pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2016, 770: 99–109.
- [16] Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance [J]. Nat Med, 2011, 17(2): 200–205.
- [17] Oelkrug R, Polymeropoulos ET, Jastroch M. Brown adipose tissue: physiological function and evolutionary significance [J]. J Comp Physiol, 2015, 185(6): 587–606.
- [18] Vargovic P, Manz G, Kvetnansky R. Continuous cold exposure induces an anti-inflammatory response in mesenteric adipose tissue associated with catecholamine production and thermogenin expression in rats [J]. Endocr Regul, 2016, 50(3): 137–144.
- [19] 郑宗基. β_3 肾上腺素受体激动剂对小鼠脂肪组织棕色化相关基因和 microRNAs 的影响 [D]. 南方医科大学, 2013.
- [20] 周丽嫦, 徐艳燕, 陈伟标, 等. 大黄素改善肥胖型 2 型糖尿病小鼠糖脂代谢的实验研究 [J]. 中药材, 2012, 35(9): 1487–1490.
- [21] Wang YJ, Huang SL, Feng Y, et al. Emodin, an 11β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor, regulates adipocyte function *in vitro* and exerts anti-diabetic effect in ob/ob mice [J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(9): 1195–1203.
- [22] 宋冰, 刘学政. 大黄素对 KK α 糖尿病小鼠脂肪组织 PPAR- α 及 PPAR- γ 表达影响的实验研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(10): 692–695.
- [23] Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis [J]. Nature, 2012, 481(7382): 463–468.