

岳欣欣,付洋,李怡然,等. 基于 HIF-1 α /自噬途径探讨二氯化钴调控 3T3-L1 脂肪细胞炎症反应及胰岛素抵抗的机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(11): 33-38.

Yue XX, Fu Y, Li YR, et al. Effect of cobalt dichloride regulating the inflammatory response and insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes through the HIF-1 α /autophagy pathway [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(11): 33-38.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.11.005

基于 HIF-1 α /自噬途径探讨二氯化钴调控 3T3-L1 脂肪细胞炎症反应及胰岛素抵抗的机制

岳欣欣¹, 付 洋², 李怡然¹, 尹晓燕¹, 于 飞¹, 傅全威^{3*}

(1. 辽宁何氏医学院, 沈阳 110000; 2. 北部战区总医院, 沈阳 110000; 3. 东莞康华医院, 广东 东莞 523080)

【摘要】 目的 探讨低氧诱导剂二氯化钴 (CoCl₂) 调控 3T3-L1 脂肪细胞自噬活性从而改善脂肪细胞炎症反应和胰岛素抵抗的机制。**方法** 常规培养和诱导分化 3T3-L1 脂肪细胞成为成熟的脂肪细胞, CoCl₂ 作为低氧诱导剂在不同时间、不同浓度条件下干预成熟的脂肪细胞, 确认 CoCl₂ 干预脂肪细胞自噬活性的最佳时间和浓度, 随后根据此时间和浓度分组, 分为 0 h (对照组)、12 h、24 h、48 h CoCl₂ 处理组, 收集细胞样本进行相关指标测定。MTT 法评价各组细胞存活情况; Western blot 分析各组细胞 HIF-1 α 及其下游蛋白葡萄糖转运蛋白 Glut-1、自噬相关蛋白 LC3-II 和 Beclin-1 的表达情况; 免疫荧光法检测各组细胞的自噬水平; ELISA 法检测各组细胞上清液中炎症因子 TNF- α 和 IL-6 分泌情况。**结果** 150 μ mol/L CoCl₂ 是调控 3T3-L1 脂肪细胞自噬水平的最佳干预浓度; 150 μ mol/L CoCl₂ 干预成熟的脂肪细胞 24 h 时, 自噬活性水平增高, 细胞存活率无显著的减低, 脂肪细胞中 HIF-1 α 、LC3-II、Beclin-1、Glut-1 蛋白的表达水平也显著升高, 但炎症因子 TNF- α 和 IL-6 分泌水平无明显增加; 48 h 时自噬水平减低, 细胞存活率出现显著减低, 脂肪细胞中 HIF-1 α 、LC3-II、Beclin-1、Glut-1 蛋白的表达水平减低, 炎症因子 TNF- α 和 IL-6 分泌水平出现增加趋势。**结论** 150 μ mol/L CoCl₂ 可以调控脂肪细胞自噬水平增加, 自噬水平的增加以依赖 HIF-1 α 的方式活化, 从而使自噬发挥保护脂肪细胞的作用使其免受炎症损伤和改善脂肪细胞胰岛素抵抗。

【关键词】 HIF-1 α ; 自噬; 3T3-L1 细胞; 炎症反应; 胰岛素抵抗

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 11-0033-06

Effect of cobalt dichloride regulating the inflammatory response and insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes through the HIF-1 α /autophagy pathway

YUE Xinxin¹, FU Yang², LI Yiran¹, YIN Xiaoyan¹, YU Fei¹, FU Quanwei^{3*}

(1. Liaoning Ho's Medical College, Shenyang 110000, China. 2. General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110000. 3. Dongguan Kanghua Hospital, Dongguan 523080)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of hypoxia inducer cobalt dichloride (CoCl₂) on autophagy of 3T3-L1 adipocytes. **Methods** 3T3-L1 adipocytes were cultured and induced to mature adipocytes. CoCl₂ was used as an inducer of hypoxia *in vitro*. Mature adipocytes were divided into control and CoCl₂ treatment groups with various concentrations and times. In accordance with the result, 150 μ mol/L cobalt dichloride was selected to treat adipocytes for 0, 12, 24 and 48 h. Then, the cells were collected for related tests. MTT assays were used to assess cell survival. Expression of HIF-1 α , autophagy-related protein LC3-II, Beclin-1 and Glut-1 was analyzed by Western blot. The level of autophagy was measured by immunofluorescence. TNF- α and IL-6 levels in culture supernatants of adipocytes were measured by ELISA. **Results** 150 μ mol/L CoCl₂ is the optimal intervention concentration to regulate the autophagy level

【基金项目】 国家自然科学基金 (72171042); 辽宁省教育厅高校项目 (SJ202103)。

【作者简介】 岳欣欣 (1983—), 女, 副教授, 研究方向: 内分泌与代谢病学。E-mail: yuexinxin1983@126.com

【通信作者】 傅全威 (1975—), 男, 教授, 研究方向: 公共卫生管理。E-mail: fuqw@163.com

of 3T3-L1 adipocytes. The levels of autophagic activity increased without reduction in cell viability after 150 $\mu\text{mol/L}$ CoCl_2 intervention in mature adipocytes for 24 h. The expression protein levels of HIF-1 α , LC3-II, Beclin-1 and Glut-1 were significantly increased in adipocytes. However, the secretion level of inflammatory factors TNF- α and IL-6 did not increased significantly. The level of autophagic activity and cell viability were decreased at 48 h. The expression protein levels of HIF-1 α , LC3-II, Beclin-1 and Glut-1 were significantly decreased in adipocytes. However, the increased secretion of inflammatory cytokines TNF- α and IL-6 were observed. **Conclusions** Autophagy was moderately activated in adipocytes by 150 $\mu\text{mol/L}$ CoCl_2 treatment for 24 hours. Autophagy was activated in a HIF-1 α -dependent manner, which plays a role in protecting adipocytes from inflammatory damage and improving insulin resistance.

【Keywords】 HIF-1 α ; autophagy; 3T3-L1 cells; inflammatory reaction; insulin resistance

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

细胞自噬 (autophagy) 是细胞在生理、营养匮乏等应激条件影响下, 通过自噬溶酶体途径, 将胞质内受损的细胞器和过度积累的脂质等成分降解的生物学过程^[1]。近年来, 通过不同的干预方法调控自噬活性, 研究其对肥胖和糖尿病疾病的影响成为学者们关注的热点^[2-5]。缺氧是诱导自噬发生的常见方法之一, 然而缺氧诱导的自噬激活是把双刃剑, 它既可以发挥保护作用, 也可以发挥加重细胞损伤的作用^[6-7]。因此, 本研究在低氧诱导剂 CoCl_2 干预条件下模拟体外缺氧环境, 以 3T3-L1 诱导为成熟脂肪细胞为细胞模型, 基于 HIF-1 α /自噬途径, 探讨低氧诱导剂 CoCl_2 调控脂肪细胞自噬活性, 发挥自噬的保护作用, 阐明其使脂肪细胞免受炎症损伤和改善胰岛素抵抗的分子机制。

1 材料和方法

1.1 细胞株

3T3-L1 前脂肪细胞购自 ATCC (XY-XB-1608)。

1.2 主要试剂与仪器

DMEM 不完全培养液和胰蛋白酶-EDTA 消化液 (Keygen); CoCl_2 (Sigma); MTT (Aladdin); 抗体: HIF-1 α (BD, 美国)、LC3B (Cell Signaling Technology, 美国)、Beclin-1 (Santa Cruz, 美国)、 β -actin (Abcam, 美国)。Western blot 及 IP 细胞裂解液、蛋白上样缓冲液、地塞米松溶液、胰岛素、1-甲基-3-异丁基-黄嘌呤 (IBMX)、FBS 胎牛血清均购自上海碧云天生物技术有限公司。

超净工作台购自江苏通净净化设备有限公司; CO_2 细胞培养箱, 购自美国 NUAIRE 公司; 高速低温离心机, 购自英国 Dynamica 公司; PCR 仪及荧光定量系统购自美国 BIO-RAD 公司; 蛋白质电泳和转移系统购自美国 BIO-RAD 公司; Olympus CKX41 显微镜、CKX53 倒置相差显微镜、BX63 自动荧光显微镜购自日本 Olympus 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养和诱导分化

3T3-L1 前脂肪细胞用含 10% 小牛血清、4 mmol/L L-谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素、链霉素的 DMEM 高糖培养液培养。细胞融合近 80%~90% 开始诱导分化, 加入含 10% 胎牛血清 (FBS)、0.5 mmol/L IBMX、1 $\mu\text{mol/L}$ 地塞米松和 10 mg/L 胰岛素的 DMEM 高糖培养液培养 48 h, 再换为含 10% FBS、10 mg/L 胰岛素的 DMEM 高糖培养液继续培养 48 h, 随后以 10% FBS 的高糖 DMEM 继续培养, 诱导 8~12 d 后进行实验。当观察到 90% 以上的细胞变圆并有大量脂滴出现, 说明 3T3-L1 被诱导为成熟的脂肪细胞^[8]。

1.3.2 分组与干预措施

将诱导分化的成熟脂肪细胞, 给予不同浓度 (50、100、150、200、400 $\mu\text{mol/L}$) 和不同时间 (0、12 h、24 h、48 h) CoCl_2 处理, 分析 CoCl_2 干预脂肪细胞的浓度和时间, 根据此结果, 将成熟的脂肪细胞分为 0 h 组 (对照组) 和 CoCl_2 干预 12 h 组、24 h 组、48 h 组。

1.3.3 细胞存活率检测 (MTT 法)

将脂肪细胞按照一定的浓度接种于 96 孔中, 每组设置 6 个平行孔, 每孔加入 100 μL 细胞悬浮液, 培养至细胞个数接近 1×10^4 /孔时, 按照分组需求加入药物干预。然后每孔加入 10 μL 浓度为 5 mg/mL 的 MTT 溶液, 放入细胞培养箱中继续培养 4 h 后弃去培养基, 每孔加入 150 μL DMSO, 放在摇床上低速摇晃 10 min, 最后用酶联免疫检测仪测定每孔在 490 nm 处的吸光值。

1.3.4 Western blot 检测

按照 Western blot 细胞裂解液说明书提取蛋白, 用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度。取 30 μg 蛋白样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 转移到 PVDF 膜上后用

5% BSA 或 5%脱脂奶粉室温封闭 2 h,然后与各种一抗在 4℃ 孵育过夜。一抗稀释度分别为:HIF-1α (1 : 500)、LC3-Ⅱ (1 : 500)、Beclin-1 (1 : 200)、Glut-1 (1 : 500)和 β-actin (1 : 4000)。TBS 洗涤 3 次后加入二抗,室温摇床 2 h 后,加入 ECL 发光液反应,曝光后拍照分析。

1.3.5 细胞免疫荧光检测

采用 LC3B 自噬荧光检测试剂盒检测脂肪细胞中自噬活性水平。将细胞以 3.5×10^4 /mL 接种于共聚焦培养皿,诱导分化成熟。实验分组和干预措施同 1.3.2,用甲醛:丙酮(1 : 1)固定细胞,LC3B 兔多克隆抗体 0.5 μg/mL 37℃ 孵育 1 h,山羊抗兔 IgG 0.01 mg/mL 37℃ 孵育 30 min,抗荧光淬灭剂封片,应用激光共聚焦显微镜拍照。

1.3.6 ELISA 法检测细胞上清液炎症因子的水平

取各组培养液上清,离心(1000 r/min,20 min),去除细胞碎片,保存于-20℃ 冰箱,按照 ELISA 试剂盒说明书步骤,检测脂肪细胞培养液上清中 TNF-α、IL-6 的水平。

1.4 统计学方法

采用 Graphpad prism 8.0 软件进行数据分析和绘图。对连续型数值变量用平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,所用分析方法为单因素方差分析,对符合正态性和方差齐性的检验,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度和不同时间 CoCl₂ 对脂肪细胞存活情况的影响

用 MTT 法检测不同浓度和不同时间 CoCl₂ 对脂肪细胞存活情况的影响,结果见图 1,随着干预时间的增加,不同 CoCl₂ 浓度组脂肪细胞均出现存活率下降的趋势,随着 CoCl₂ 浓度的增加,同一时间段脂肪细胞的存活率也随之降低,这提示脂肪细胞存活率与 CoCl₂ 浓度变化、干预时间存在剂量依赖和时间依赖的变化趋势。不同浓度 CoCl₂ 干预脂肪细胞 12~24 h 时,细胞存活率开始出现下降趋势,但是下降趋势不明显。干预 24~48 h 时脂肪细胞存活率出现明显下降趋势,这提示干预 24 h 是潜在的时间节点。用 50、100、150 μmol/L 浓度的 CoCl₂ 干预脂肪细胞 24 h 时,细胞存活率出现下降的趋势,但不显著,而用 200、400 μmol/L 浓度的 CoCl₂ 干预脂肪细胞 24 h,细胞存活率出现显著降低的趋势。

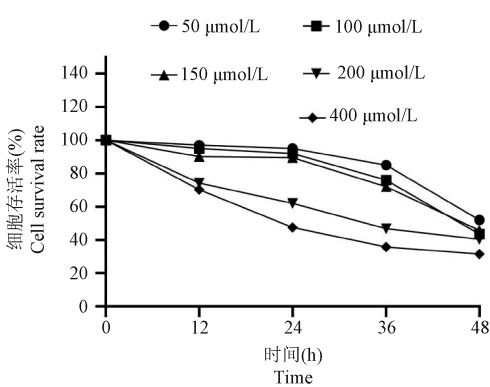


图 1 不同浓度不同时间 CoCl₂ 对脂肪细胞存活率影响

Figure 1 Effect of different concentration and time of CoCl₂ on the survival rate of adipocytes

这提示 150 μmol/L 浓度的 CoCl₂ 是干预脂肪细胞模拟适度缺氧环境的最佳浓度。

2.2 CoCl₂ 对脂肪细胞中 HIF-1α、LC3-Ⅱ、Beclin-1、Glut-1 蛋白表达水平的影响

根据 2.1 实验结果,选取 150 μmol/L 的 CoCl₂ 对脂肪细胞分别干预 0 h、12 h、24 h、48 h,检测脂肪细胞中 HIF-1α、LC3-Ⅱ、Beclin-1、Glut-1 蛋白的表达水平,结果如图 2 所示,与 0 h 组(对照组)相比,12 h 和 24 h 组 LC3-Ⅱ、Beclin-1 蛋白表达水平增高,且具有统计学意义($P<0.05$),与 12 h 组相比,24 h 组 LC3-Ⅱ、Beclin-1 蛋白表达水平增高,且具有统计学意义($P<0.05$),这一结果提示 12~24 h 自噬相关蛋白表达增加,自噬水平增加,24 h 自噬水平增加最为显著。与 0 h 组(对照组)相比,12 h 和 24 h 组 HIF-1α、Glut-1 蛋白表达水平增高,且具有统计学意义($P<0.05$),与 12 h 组相比,24 h 组 HIF-1α、Glut-1 蛋白表达水平增高,且具有统计学意义($P<0.05$),这一结果提示缺氧 12~24 h 时 HIF-1α 及其下游的 Glut-1 蛋白表达水平开始增加,且与自噬增加水平一致,自噬水平增加可能以依赖 HIF-1α 方式存在。

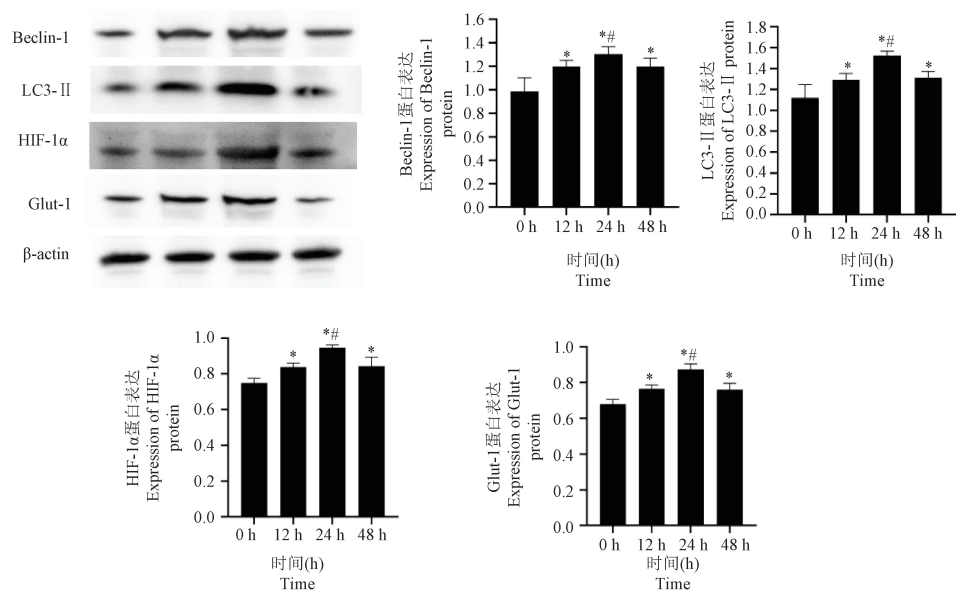
2.3 CoCl₂ 对脂肪细胞自噬水平的影响

采用 LC3B 自噬免疫荧光检测试剂盒检测脂肪细胞自噬水平,结果见图 3,与 0 h 组(对照组)相比,24 h 组自噬水平显著增加,12 h 和 48 h 组自噬水平无显著变化。这一结果提示 150 μmol/L 的 CoCl₂ 干预脂肪细胞 24 h,自噬活化水平最为显著,与自噬相关蛋白 LC3-Ⅱ、Beclin-1 表达水平一致。

2.4 CoCl₂ 对脂肪细胞中炎症因子 TNF-α、IL-6 水平的影响

检测脂肪细胞上清液中炎症因子 TNF-α、IL-6

的水平,结果见图 4,与 0 h 组(对照组)相比 12 h 和 24 h 组细胞中炎症因子 TNF-α、IL-6 水平无明显增加,无统计学意义($P>0.05$),48 h 组细胞中炎症因



注:与 0 h 组相比, * $P<0.05$;与 12 h 组相比, # $P<0.05$ 。

图 2 不同时间 CoCl₂ 对脂肪细胞中 HIF-1α、LC3- II、Beclin-1 和 Glut-1 蛋白的表达的影响

Note. Compared with 0 h group, * $P<0.05$. Compared with 12 h group, # $P<0.05$.

Figure 2 Effects of CoCl₂ on the expressions of HIF-1α,LC3- II ,Beclin-1 and Glut-1 in adipocytes of different times

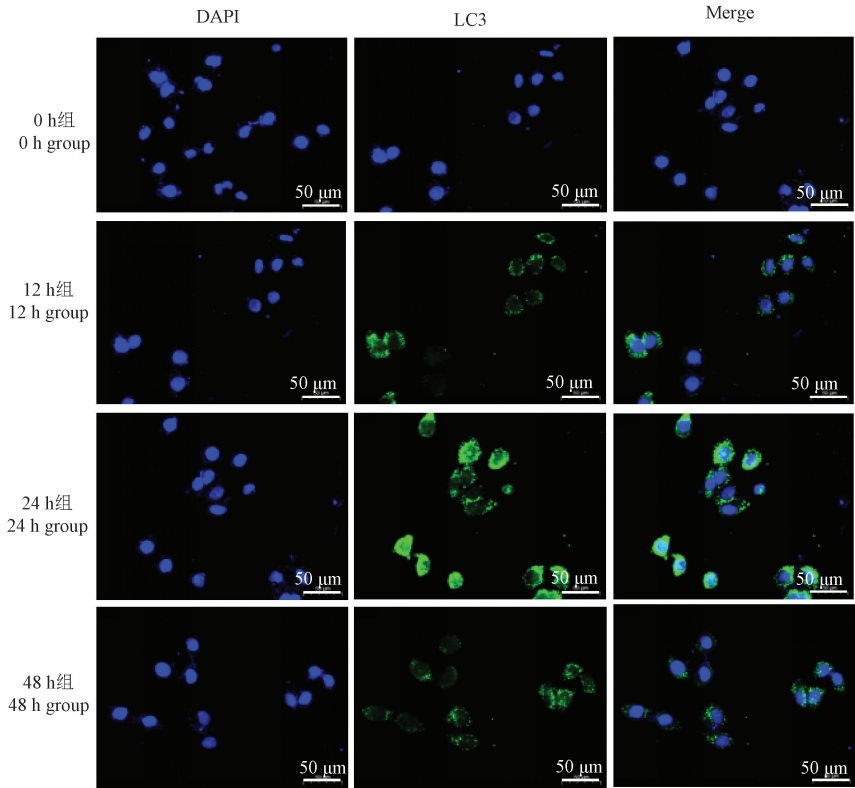
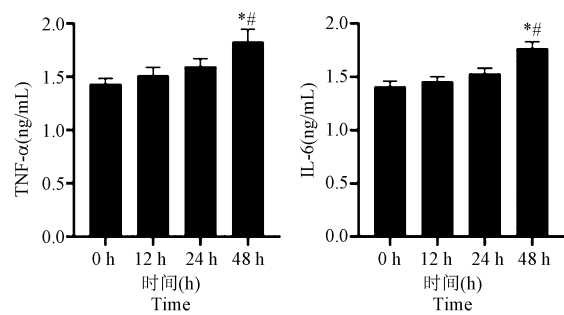


图 3 免疫荧光检测 LC3B 的表达情况

Figure 3 Results of LC3 positive cell staining in each group



注:与 0 h 组相比, * $P<0.05$;与 12 h 组相比, [#] $P<0.05$ 。
图 4 脂肪细胞上清液中炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的水平
Note. Compared with 0 h group, * $P<0.05$. Compared with 12 h group, [#] $P<0.05$.

Figure 4 Effects of CoCl_2 on the expressions of TNF- α and IL-6 in culture supernatants of adipocytes

子 TNF- α 、IL-6 水平显著增加,且有统计学意义($P<0.05$)。与 12 h 组相比,24 h 组细胞中炎症因子 TNF- α 、IL-6 水平无明显增加,无统计学意义($P>0.05$)。48 h 组细胞中炎症因子 TNF- α 、IL-6 水平显著增加,且有统计学意义($P<0.05$)。这一结果提示缺氧干预 12~24 h 时是适度缺氧条件下,自噬水平增加以依赖 HIF-1 α 的方式增加的同时,自噬发挥保护细胞的作用,减轻了细胞炎症因子的水平。

3 讨论

体外模拟缺氧环境,诱导细胞缺氧常用二氯化钴(CoCl_2),其主要机制是二价钴离子可诱导细胞低氧诱导因子(hypoxia induced factor, HIF)及其调控的下游基因的表达^[9]。因此,故本研究以此为依据将 3T3-L1 细胞暴露于二氯化钴作用条件下观察细胞在缺氧应激条件下的生物学变化情况,本研究结果发现,随着 CoCl_2 干预细胞时间的增加,不同 CoCl_2 浓度组脂肪细胞均出现存活率下降的趋势,随着 CoCl_2 浓度的增加,同一时间段脂肪细胞的存活率也随之降低,这提示脂肪细胞存活率与 CoCl_2 浓度变化、干预时间存在剂量依赖和时间依赖的变化趋势。12~24 h 时段,用不同浓度 CoCl_2 干预脂肪细胞时,细胞存活率开始出现下降趋势,但是下降趋势不明显。24~48 h 时段,用不同浓度 CoCl_2 干预脂肪细胞时,脂肪细胞存活率出现明显下降趋势,这提示 CoCl_2 干预脂肪细胞 24 h 是潜在的影响脂肪细胞存活率的时间转折点。再观察 24 h 时,用 50、100、150 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 CoCl_2 干预脂肪细胞,脂肪细胞存活率开始出现下降的趋势,但是不显著,

用 200、400 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 CoCl_2 干预脂肪细胞,脂肪细胞存活率出现显著降低的趋势,这提示 150 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 CoCl_2 是干预脂肪细胞模拟适度缺氧环境的最佳浓度,这一结果与既往研究结果相似^[10]。

缺氧是诱导自噬发生的最常见原因之一^[11]。缺氧后 HIF-1 α 被活化,如果自噬以依赖 HIF-1 α 活化的方式发生,将有助于抵御缺氧损伤,维持细胞稳态;如果自噬以不依赖 HIF-1 α 活化的方式被激活,将促进细胞损伤和凋亡,既往多项研究基于此探讨如何调控自噬来达到治疗疾病的作用^[12-18]。鉴于此,本研究预探讨 150 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 CoCl_2 干预脂肪细胞是否可调控自噬以依赖 HIF-1 α 活化的方式发生,发挥自噬保护细胞的作用。因此,阐明 HIF-1 α /自噬途径的关键分子信号通路是本研究的关键所在。本研究选取 150 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 CoCl_2 分别于 0 h、12 h、24 h、48 h 干预脂肪细胞,探索 HIF-1 α 及其下游的 Glut-1 蛋白、自噬相关蛋白 LC3- II、Beclin-1 表达水平,本研究结果发现,与 0 h 组(对照组)相比,24 h 组自噬相关蛋白 LC3- II、Beclin-1 表达水平显著增加, HIF-1 α 及其下游的 Glut-1 蛋白表达水平也显著增加,且增加水平明显高于其他组,由此结果我们推测自噬的活化是以依赖 HIF-1 α 活化的方式发生的,进一步说明 150 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 CoCl_2 干预脂肪细胞 24 h 是调控自噬活化的最佳干预条件,且在此干预条件下自噬以依赖 HIF-1 α 方式的活化,发挥其保护细胞的作用。与此同时,本研究进一步通过免疫荧光技术检测自噬活性,结果发现,与 0 h 组(对照组)相比,24 h 时自噬活化水平显著增加,且最为显著,这一研究结果与 24 h 时自噬相关蛋白 LC3- II、Beclin-1 表达水平一致。由此,本研究发现,基于 HIF-1 α /自噬途径,150 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 CoCl_2 干预脂肪细胞 24 h 可调控自噬活化发挥保护细胞的作用。既往研究发现 150 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 CoCl_2 干预脂肪细胞 24 h 后,脂肪细胞开始出现凋亡表现,凋亡的相关蛋白 p53、Bcl-2 和 caspase-9 等表达增加^[10],这项研究从另一个方向说明 24 h 后自噬开始发挥促进细胞损伤和凋亡的作用,也从另一个方向证实了本研究的结果是与其一致的。

既往研究证实,与瘦体重人群相比,肥胖人群脂肪组织中自噬相关蛋白 LC3 的表达水平增高,且与脂肪组织炎状态和胰岛素抵抗密切相关,但是对

于肥胖状态下脂肪细胞自噬活性和炎症状态的变化存在争议^[4,19]。基于上述理论,为进一步说明基于 HIF-1 α /自噬途径,150 μ mol/L 浓度的 CoCl₂ 干预脂肪细胞 24 h 可调控自噬活化发挥保护细胞的作用与抑制脂肪细胞炎症因子的分泌相关。本研究采用 150 μ mol/L 浓度的 CoCl₂ 干预脂肪细胞 0 h、12 h、24 h、48 h,分析脂肪细胞中脂肪炎症因子的分泌情况,研究结果发现随着干预时间的延长,脂肪炎症因子 TNF- α 、IL-6 分泌水平逐渐升高,与 0 h 组相比,12 h、24 h 脂肪炎症因子 TNF- α 、IL-6 分泌水平无显著升高,48 h 时脂肪炎症因子 TNF- α 、IL-6 分泌水平升高最为显著,这与 24 h 时自噬相关蛋白 LC3-II、Beclin-1 表达水平显著增加趋势相反,也与 24 h 时 HIF-1 α 及其下游的 Glut-1 蛋白表达水平显著增加的趋势相反,这提示自噬活性增加时,炎症因子的分泌减少。这一结果明确了 50 μ mol/L 浓度的 CoCl₂ 干预脂肪细胞 24 h 可调控自噬活化,抑制脂肪细胞炎症因子的分泌,发挥保护细胞免于炎症损伤的作用。炎症因子 TNF- α 和 IL-6 分泌可干扰胰岛素信号通路转导导致胰岛素抵抗^[20-21]。由此,本研究可进一步推测 150 μ mol/L 浓度的 CoCl₂ 干预脂肪细胞 24 h 可基于 HIF-1 α /自噬途径激活自噬活性,抑制炎症因子分泌进而改善脂肪细胞的胰岛素抵抗发挥细胞保护作用。

综上所述,本研究发现基于 HIF-1 α /自噬途径,150 μ mol/L 浓度的 CoCl₂ 干预脂肪细胞 24 h 可调控自噬以依赖 HIF-1 α 的方式被活化,使脂肪细胞免于进一步的炎症损伤,并改善脂肪细胞的胰岛素抵抗,发挥其保护脂肪细胞的作用。期望低氧调控自噬成为治疗肥胖、2 型糖尿病的靶点,未来如何更加精准调控细胞的自噬活化强度,分析其治疗肥胖和糖尿病的精确分子机制,仍需要更多更先进深入的研究。

参考文献:

[1] Lippai M, Szatmári Z. Autophagy-from molecular mechanisms to clinical relevance [J]. Cell Biol Toxicol, 2017, 33(2): 145-168.

[2] Tao T, Xu H. Autophagy and obesity-related reproductive dysfunction [J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1207: 463-466.

[3] 张林, 胡茂清. 自噬和肥胖 [J]. 中国糖尿病杂志, 2015, 23(4): 372-374.

[4] 王巍巍, 邓德剑, 李秋明, 等. 脂肪组织中自噬与肥胖关系

的研究进展 [J]. 生命科学, 2018, 30(7): 779-783.

[5] 张一文, 喻松仁, 姚琦, 等. 细胞自噬调控肥胖脂肪组织炎症状态的研究进展 [J]. 江西中医药, 2020, 51(8): 77-80.

[6] 徐涛, 张杰. 缺氧对自噬双重作用调节的研究进展 [J]. 疑难病杂志, 2017, 16(7): 750-754.

[7] Gonzalez FJ, Xie C, Jiang C. The role of hypoxia-inducible factors in metabolic diseases [J]. Nat Rev Endocrinol, 2018, 15(1): 21-32.

[8] 郭秀玲, 徐民岗, 张秀丽, 等. 小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞培养与诱导分化方法的建立 [J]. 中国药物与临床, 2013, 13(12): 1542-1544, 1662.

[9] 权晶晶, 凌均策. 二氯化钴在体外细胞缺氧研究中的应用 [J]. 国际口腔医学杂志, 2009, 36(4): 455-458.

[10] Kumar TV, Allur SS, Inho H. Molecular and cellular response of co-cultured cells toward cobalt chloride (CoCl₂)-Induced hypoxia [J]. ACS Omega, 2019, 4(25): 20882-20893.

[11] 张洁, 丁金旺, 李文华. 低氧诱导自噬相关信号通路分子机制研究进展 [J]. 现代医药卫生, 2019, 35(16): 2476-2479.

[12] 徐倩, 哈小琴. 自噬在缺氧应激中的保护作用及其调控机制 [J]. 医学研究杂志, 2017, 46(2): 7-9.

[13] LI Y, GAO S, Du XY, et al. Advances in autophagy as a target in the treatment of tumors [J]. J Drug Target, 2022, 30(2): 166-187.

[14] Zhu H, Liu H, Chen X, et al. Enhancing autophagy and energy metabolism in the meniscus can delay the occurrence of PTOA in ACLT rat [J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10: 971736. [PubMed].

[15] Alim AB MA, Xu P. Molecular regulation of autophagy machinery by mTOR-dependent and-independent pathways [J]. Ann N Y Acad Sci, 2020, 1467(1): 3-20.

[16] 周罗慧, 柏亚明, 孙毅, 等. 血管生成过程中的自噬调控作用及自噬信号通路调控机制研究进展 [J]. 山东医药, 2021, 61(6): 108-111.

[17] 张晓红, 时景璞. 缺氧诱导因子-1 调控缺氧状态下心肌细胞自噬和凋亡的研究进展 [J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2020, 27(9): 1087-1093.

[18] 刘瑞清, 袁小澎. 缺氧诱导因子-1 α 参与肝纤维化形成机制研究进展 [J]. 实用肝脏病杂志, 2021, 24(1): 145-148.

[19] 赵永军, 何玉秀. 自噬介导运动改善肥胖症脂肪组织炎症状态研究进展 [J]. 中国运动医学杂志, 2016, 35(7): 675-681.

[20] 姚庆, 王浩安, 高文婷, 等. 脂肪细胞分泌的炎症因子及相关信号通路介导的肥胖和胰岛素抵抗 [J]. 大连医科大学学报, 2022, 44(4): 341-345.

[21] Wondmkun YT. Obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes: associations and therapeutic implications [J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2020, 13: 3611-3616.

[收稿日期] 2023-01-10