

女贞子对去卵巢小鼠脂肪生成的抑制作用及 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响

刘亚鸽, 戴璇, 刘田园, 王 钊, 张悦怡, 卢美希, 陈贝贝, 朱如愿, 王丽丽, 张东伟*

北京中医药大学中医学院 糖尿病研究中心, 北京 100029

摘要: **目的** 研究女贞子对去卵巢小鼠脂代谢的影响及其可能的作用机制。**方法** 采用切除双侧卵巢法建立小鼠骨质疏松模型, 以女贞子水提液 (3.5 g/kg) 或戊酸雌二醇 (0.1 mg/kg) 连续干预去卵巢小鼠 12 周。采用苏木素-伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 染色法观察各组小鼠内脏脂肪组织的病理变化; 利用生化法测定血清中高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和三酰甘油 (triglyceride, TG) 水平; 采用 Western blotting 法检测内脏脂肪组织中无翅型 MMTV 整合位点家族/ β -连环蛋白 (wingless type MMTV integration site family/ β -catenin, Wnt/ β -catenin) 信号通路和脂肪生成相关蛋白的表达。**结果** 女贞子水提液能够显著抑制去卵巢小鼠体质量和体脂相对比率的增加 ($P < 0.05$), 降低血清中 TC、TG 和 LDL-C 水平 ($P < 0.05$), 减轻内脏脂肪组织细胞肥大 ($P < 0.05$)。同时, 女贞子水提液可明显提高去卵巢小鼠内脏脂肪组织中 Wnt 10b 蛋白表达水平 ($P < 0.05$), 降低 p- β -catenin/ β -catenin、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 和 CCAAT/增强子结合蛋白 α (CCAAT/enhancer binding proteins α , C/EBP α) 蛋白表达水平 ($P < 0.05$)。**结论** 女贞子水提液能够抑制去卵巢小鼠的脂肪生成, 改善脂代谢, 其作用机制可能与调控 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。

关键词: 女贞子; 去卵巢小鼠; 脂肪代谢; Wnt/ β -catenin 信号通路; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; CCAAT/增强子结合蛋白 α

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)12-3680-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.12.013

Effect of *Ligustri Lucidi Fructus* on inhibiting adipogenesis and regulating Wnt/ β -catenin signaling pathway in ovariectomized mice

LIU Ya-ge, DAI Xuan, LIU Tian-yuan, WANG Shan, ZHANG Yue-yi, LU Mei-xi, CHEN Bei-bei, ZHU Ru-yuan, WANG Li-li, ZHANG Dong-wei

Diabetes Research Center, School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: **Objective** To study the effect and possible mechanism of Nvzhenzi (*Ligustri Lucidi Fructus*) on lipid metabolism in ovariectomized mice. **Methods** Osteoporotic mice model was established by removing the bilateral ovaries, and ovariectomized mice were ig *Ligustri Lucidi Fructus* aqueous extract (3.5 g/kg) or estradiol valerate (0.1 mg/kg) for 12 weeks. Pathological changes of visceral adipose tissue were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining. Levels of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) in serum were determined by biochemical method. Expressions of proteins involved in wingless type MMTV integration site family/ β -catenin (Wnt/ β -catenin) signaling pathway and its regulated adipogenesis-associated proteins in visceral adipose tissue were detected by Western blotting. **Results** *Ligustri Lucidi Fructus* aqueous extract significantly inhibited the increase of body weight and body fat relative ratio ($P < 0.05$), decreased the levels of TC, TG and LDL-C in serum ($P < 0.05$), and reduced cell hypertrophy of visceral adipose tissue in ovariectomized mice ($P < 0.05$). Moreover, *Ligustri Lucidi Fructus* aqueous extract obviously increased the expression level of Wnt 10b ($P < 0.05$), decreased the expression levels of p- β -catenin/ β -catenin, peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) and CCAAT/enhancer binding proteins α (C/EBP α) in visceral adipose tissue of ovariectomized mice ($P < 0.05$). **Conclusion** *Ligustri Lucidi Fructus* aqueous extract

收稿日期: 2022-03-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81874373); 国家自然科学基金资助项目 (82074235)

作者简介: 刘亚鸽, 女, 博士研究生, 研究方向为中药防治糖尿病作用机制。E-mail: liuyage103@163.com

*通信作者: 张东伟, 博士生导师, 研究方向为内分泌代谢性疾病的发病机制和中药防治作用研究。E-mail: zhdw1006@163.com

could inhibit adipogenesis and further improve lipid metabolism in ovariectomized mice, which may be associated with the regulation of Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Key words: *Ligustri Lucidi Fructus*; ovariectomized mice; lipid metabolism; Wnt/ β -catenin signaling pathway; peroxisome proliferator-activated receptor γ ; CCAAT/enhancer binding proteins α

肥胖是指人体内脂肪的过量累积,与其他组织失去正常比例的一种状态,表现为脂肪细胞增多和(或)细胞体积增大。肥胖的发生与遗传、生活习惯及内分泌激素失调等多种因素密切相关。长期的肥胖会诱发糖尿病、高血压、动脉粥样硬化、骨关节病及心脑血管病等一系列疾病^[1]。流行病学研究显示,肥胖的发病率逐年增高,已经给个人和社会造成严重的负担,并逐渐成为世界上主要的公共卫生问题之一^[2]。近年来,绝经后女性因体内雌激素水平下降诱发骨代谢、肥胖等多种代谢综合征逐渐引起研究者的兴趣^[3]。研究发现,绝经后女性常伴有体脂分布的改变,主要表现为内脏脂肪的积累增多^[4]。虽然脂肪组织在生物体内能量代谢方面发挥着重要的调控作用^[5],但是与肥胖相关的内脏脂肪的过度积累会进一步增加患代谢综合征的风险^[6]。因此,探索内脏脂肪组织的代谢及发展新的治疗方案对于防治绝经后肥胖有着重要的意义。

体内脂肪的生成主要受过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 和 CCAAT/增强剂结合蛋白 α (CCAAT/enhancer binding proteins α , C/EBP α) 等多种成脂转录因子的调控^[7]。研究发现,C/EBP α 和 PPAR γ 能够相互调节,激活下游靶基因如脂肪细胞脂结合蛋白 2、脂蛋白脂肪酶和胆固醇调节元件结合蛋白-1c (sterol regulatory element-binding protein-1c, SREBP-1c) 等,从而调控脂肪细胞的生成^[8]。研究也发现,无翅型 MMTV 整合位点家族(wingless type MMTV integration site family, Wnt) 信号是脂肪组织发育的重要调节因子,与人类肥胖、体脂分布和代谢功能障碍有关^[9]。Wnt 信号可以调控骨髓间充质干细胞向脂肪细胞和成骨细胞双向分化的能力,当 Wnt 信号被阻断时骨髓基质细胞主要向脂肪细胞分化^[10]。研究表明,Wnt/ β -连环蛋白(Wnt/ β -catenin) 通路可以负调控成脂转录因子 C/EBP α 和 PPAR γ ^[11],抑制脂肪生成^[12]。

女贞子是一种药食同用的中药,首载于《神农本草经》:“补中,安五脏,养精神,除百病,久服,肥健轻身不老。”研究表明,女贞子具有抗骨质疏

松^[13-14]和抗肥胖^[15]等作用。本课题组前期研究发现,女贞子可能通过调控 Wnt/ β -catenin 通路调节骨代谢从而发挥抗骨质疏松的作用^[16]。然而,女贞子能否通过调控该信号通路抑制脂肪生成,进而改善绝经后肥胖小鼠的脂代谢,目前未见相关报道。因此,本研究以去卵巢诱发的肥胖小鼠为模型,探讨女贞子对去卵巢小鼠脂肪生成的影响及其作用机制,为防治绝经后肥胖等代谢性疾病提供新的策略。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雌性 C57BL/6J 小鼠 24 只,7 周龄,体重质量(20 $\pm$ 2) g,购自北京斯贝福实验动物科技有限公司,动物许可证号 SCXK(京)2020-0004。动物于北京中医药大学科研实验中心清洁级动物实验室内饲养[合格证号 SCXK(京)2020-0002],12 h/12 h 光暗周期,相对湿度(55 $\pm$ 1)%,室温(22 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C,以正常饲料喂养,实验期间小鼠自由饮水摄食,笼具、垫料、饮用水等定期更换清洁。实验方案经北京中医药大学动物实验伦理委员会批准(批准号 BUCM-4-2020091413-3066)。

1.2 药材

女贞子购自北京同仁堂药店总店,经北京中医药大学中药博物馆马泽新教授鉴定为木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的干燥成熟果实。

1.3 药品与试剂

戊酸雌二醇(批号 J20130009)购自德国拜耳公司;总胆固醇(total cholesterol, TC)检测试剂盒(批号 20211028)、三酰甘油(triglyceride, TG)检测试剂盒(批号 20211028)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)检测试剂盒(批号 20211027)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)检测试剂盒(批号 20211027)购自南京建成生物工程研究所;ECL 超敏发光液(批号 20210916)购自新赛美生物科技有限公司;Wnt 10b 抗体(批号 10011210)、PPAR γ 抗体(批号 00091738)、C/EBP α 抗体(批号 00045016)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号 10015666)、

HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体 (批号 20000311)、HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体 (批号 20000261) 购自 Proteintech 公司; β -catenin 抗体 (批号 L02120962)、p- β -catenin 抗体 (批号 110233554) 购自沈阳万类生物科技有限公司。

1.4 仪器

EchoMRI-100H 型身体成分分析仪 (美国 EchoMRI 公司); FLUO star Omega 多功能酶标仪 (德国 BMG Labtech 公司); 电泳和转膜装置 (美国 Bio-Rad 公司); Azure c500 型凝胶成像仪 (美国 Azure Biosystems 公司); EG1150H 型包埋机、EG1150C 型冰冻机、RM2255 型轮转式切片机 (德国 Leica 公司); BX53 型倒置荧光显微镜 (日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 女贞子水提液的制备

按照郭鱼波等^[17]的方法制备女贞子水提液: 将原生药材女贞子打成粗粉后, 准确称取 100 g, 加入 1 L 蒸馏水, 置于磁力搅拌器上低温搅拌 48 h 后, 低温 4000 r/min 离心 20 min 后取上清, 然后将上清于旋转蒸发仪中低温旋蒸, 浓缩至含生药 0.35 g/mL 的女贞子水提液, 经 HPLC-DAD-ESI-MS 分析, 女贞子水提液中主要含有红景天苷、女贞苷、麦角甾苷、特女贞苷和橄榄苦苷酸等成分^[18]。

2.2 去卵巢小鼠模型建立、分组、给药及样品处理

按照郭鱼波等^[17]的方法进行造模: 将麻醉后的小鼠, 切除双侧卵巢, 其中对照组小鼠在卵巢附近切除同样大小的脂肪组织。将造模成功的小鼠, 随机分为模型组、戊酸雌二醇 (0.1 mg/kg) 组和女贞子 (3.5 g/kg, 此给药剂量在本课题组前期研究中已被证明对预防骨质疏松症有效^[16,18-19]) 组, 每组 6 只。各给药组 ig 相应药物, 对照组和模型组 ig 等体积的蒸馏水, 1 次/d, 连续 12 周。实验期间, 每周称定各组小鼠的体质量。给药结束后, 各组小鼠 ip 1% 戊巴比妥钠麻醉, 心脏取血, 4 °C、3500 r/min 离心 10 min 后, 血清分装于 -80 °C 冰箱保存待用。同时取各组小鼠的皮下脂肪组织、内脏脂肪组织和肩胛处的棕色脂肪组织, 其中一部分固定于 4% 多聚甲醛溶液中用于病理检测, 其余于 -80 °C 冰箱中保存进行相应的实验。

2.3 体脂成分测定

给药结束后, 采用身体成分分析仪测定并记录各组小鼠体内脂肪含量, 并计算各组小鼠脂肪与体

质量的相对比率。

2.4 内脏脂肪组织的苏木素-伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 染色

将固定在 4% 多聚甲醛溶液中的内脏脂肪组织按照常规 HE 染色法进行脱水包埋切片染色, 中性树胶封片后置于倒置显微镜下观察脂肪组织病理变化并拍照。根据 Shen 等^[20]的方法计算脂肪细胞大小, 平均脂肪细胞大小表示为组织样本中每个细胞的平均横截面积 ($\mu\text{m}^2/\text{细胞}$)。

2.5 血清生化指标测定

按照试剂盒说明书分别测定血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 含量。

2.6 Western blotting 检测内脏脂肪组织蛋白表达

将内脏脂肪组织用 RIPA 裂解液裂解, 采用低温机械匀浆的方法提取组织蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。将变性蛋白样品经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 封闭后分别加入 Wnt 10b 抗体 (1: 6000)、 β -catenin 抗体 (1: 1000)、p- β -catenin 抗体 (1: 1000)、PPAR γ 抗体 (1: 1000)、C/EBP α 抗体 (1: 1000) 和 GAPDH 抗体 (1: 20000), 4 °C 孵育过夜。次日, 加入相应二抗 (1: 4000), 室温孵育 1 h, 用 ECL 超敏发光液显色, Azure 凝胶成像仪拍照。以相应的 GAPDH 作为内参, 利用 Image J 图像分析软件对各目标条带的灰度值进行半定量分析。

2.7 统计学分析

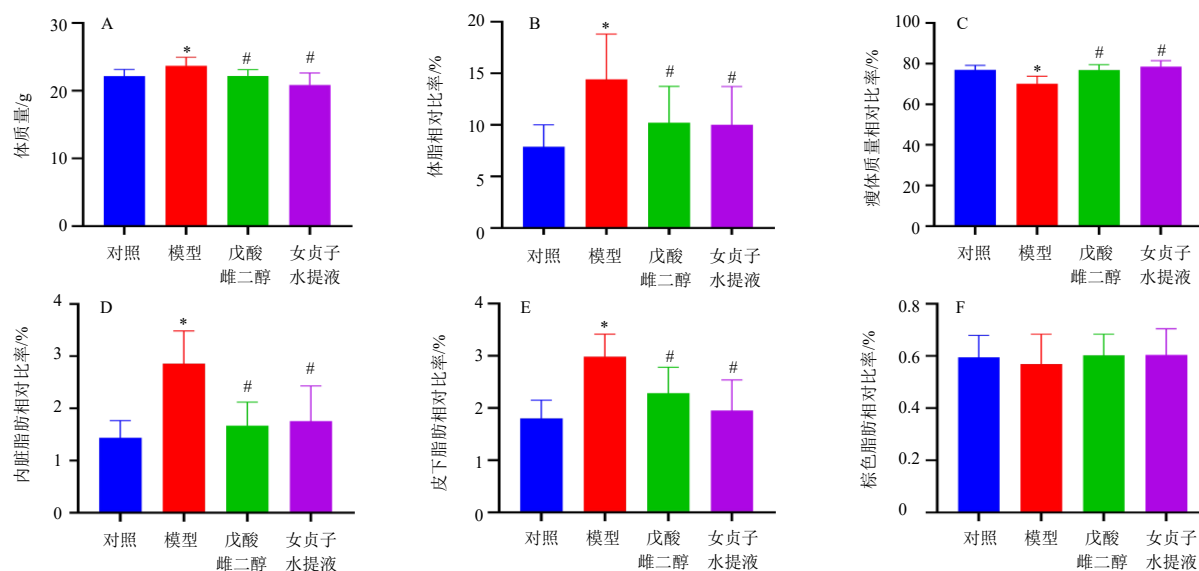
利用 GraphPad prism 8.0 软件对数据进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。满足正态分布且方差齐时采用单因素方差分析, 方差不齐时使用近似 F 检验。不满足正态分布时, 则使用非参数检验。

3 结果

3.1 女贞子水提液对去卵巢小鼠体质量和体脂分布的影响

如图 1-A~C 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠的体质量和体脂相对比率显著增加 ($P < 0.05$), 瘦体质量相对比率显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 各给药组小鼠的体质量和体脂相对比率显著下降 ($P < 0.05$), 瘦体质量相对比率显著升高 ($P < 0.05$)。

在体脂分布 (图 1-D~F) 方面, 模型组小鼠内脏脂肪组织和皮下脂肪组织相对比率显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而戊酸雌二醇和女贞子水提液能够显著降低内脏脂肪组织和皮下脂肪组织相对比率



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, 下图同

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group, same as below figures

图 1 女贞子水提液对去卵巢小鼠体重 (A)、体脂相对比率 (B)、瘦体质量相对比率 (C)、内脏脂肪相对比率 (D)、皮下脂肪相对比率 (E) 和棕色脂肪相对比率 (F) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of *Ligustri Lucidi Fructus* aqueous extract on body weight (A), body fat relative ratio (B), lean relative ratio (C), visceral adipose tissue relative ratio (D), subcutaneous adipose tissue relative ratio (E) and brown adipose tissue relative ratio (F) in ovariectomized mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

($P < 0.05$), 棕色脂肪组织相对比率在各组间无显著性变化。上述结果提示, 女贞子水提液能够抑制去卵巢小鼠体质量和体脂相对比率的增加, 改善脂肪分布。

3.2 女贞子水提液对去卵巢小鼠内脏脂肪组织脂肪细胞大小的影响

如图 2 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠内脏脂肪组织脂肪细胞的大小显著增加 ($P < 0.05$)。而

雌二醇和女贞子水提液干预后, 小鼠内脏脂肪组织脂肪细胞的大小显著降低 ($P < 0.05$)。说明女贞子水提液能够抑制去卵巢小鼠内脏脂肪组织脂肪细胞肥大。

3.3 女贞子水提液对去卵巢小鼠血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 含量的影响

如图 3 所示, 模型组小鼠血清中 TC、TG 和 LDL-C 水平较对照组分别升高了 52.5%、54.0%和

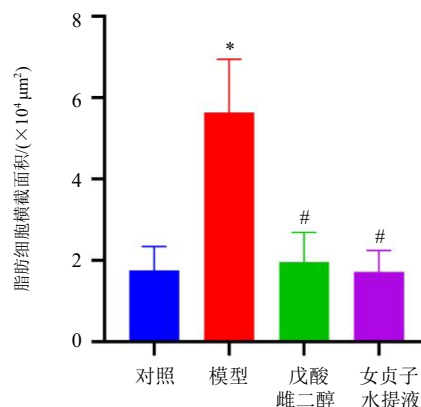
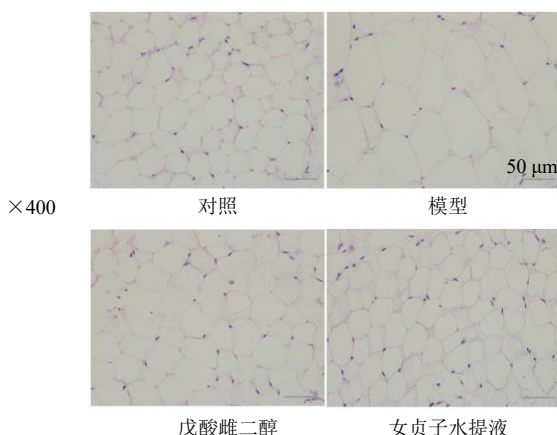


图 2 女贞子水提液对去卵巢小鼠内脏脂肪组织脂肪细胞大小的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of *Ligustri Lucidi Fructus* aqueous extract on adipocyte size of visceral adipose tissue in ovariectomized mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

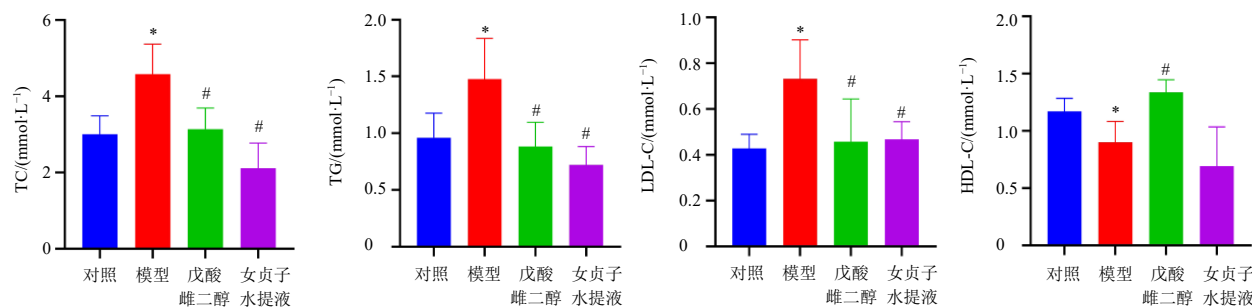


图3 女贞子水提液对去卵巢小鼠血清中 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of *Ligustri Lucidi Fructus* aqueous extract on TC, TG, LDL-C and HDL-C levels in serum of ovariectomized mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

70.9% ($P < 0.05$), 雌二醇和女贞子水提液干预能显著降低去卵巢小鼠血清中 TC、TG 和 LDL-C 水平 ($P < 0.05$), 但女贞子水提液对去卵巢小鼠血清中 HDL-C 水平无显著性影响。以上结果表明, 女贞子水提液能够调节去卵巢小鼠的 TC 和 TG 代谢, 从而改善机体的脂质代谢。

3.4 女贞子水提液对去卵巢小鼠内脏脂肪组织中成脂转录因子表达的影响

本研究主要探究女贞子对去卵巢小鼠脂代谢的影响。此外, 已有研究表明雌二醇能够通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制成骨细胞向成脂细胞的分化^[21], 因此, 以下机制研究部分将重点探索女贞子对脂肪代谢相关因子的作用。C/EBP α 和 PPAR γ 是脂肪生成过程中的关键调控因子^[22]。采用 Western blotting 法检测各组小鼠内脏脂肪组织中 C/EBP α 和 PPAR γ 的蛋白表达水平, 如图 4 所示, 与对照组相

比, 模型组小鼠内脏脂肪组织中 C/EBP α 和 PPAR γ 蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 女贞子组小鼠内脏脂肪组织中 C/EBP α 和 PPAR γ 蛋白表达水平显著下调 ($P < 0.05$)。表明女贞子水提液能够抑制去卵巢小鼠内脏脂肪组织中 C/EBP α 和 PPAR γ 的表达, 从而抑制脂肪过度生成。

3.5 女贞子水提液对去卵巢小鼠内脏脂肪组织 Wnt 和 β -catenin 蛋白表达的影响

如图 5 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠内脏脂肪组织 Wnt 10b 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), p- β -catenin/ β -catenin 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 女贞子组小鼠内脏脂肪组织中 Wnt 10b 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$), p- β -catenin/ β -catenin 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。上述结果表明, 女贞子水提液能够激活去卵巢小鼠内脏脂肪组织中 Wnt/ β -catenin 信号通路。

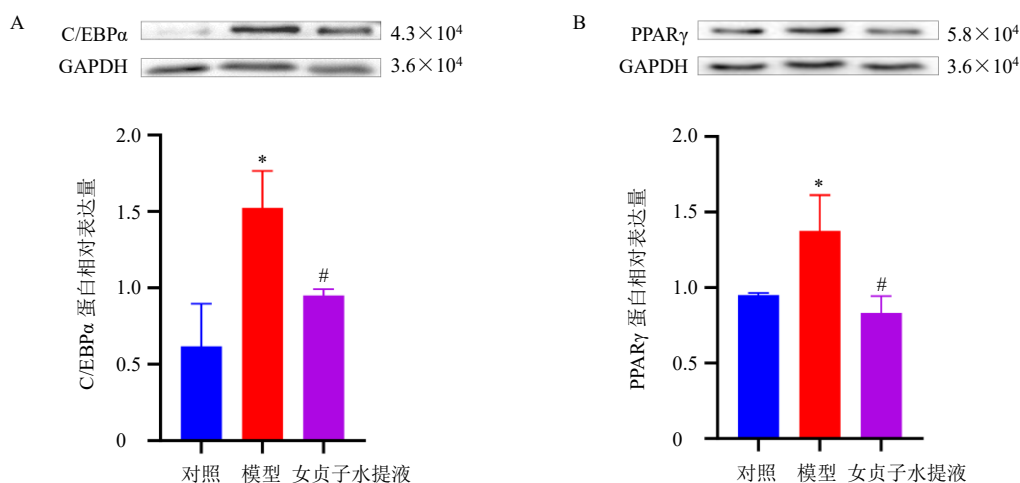


图4 女贞子水提液对去卵巢小鼠内脏脂肪组织中成脂转录因子 C/EBP α (A) 和 PPAR γ (B) 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effect of *Ligustri Lucidi Fructus* aqueous extract on protein expressions of adipogenic transcription factors C/EBP α (A) and PPAR γ (B) in visceral adipose tissue of ovariectomized mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

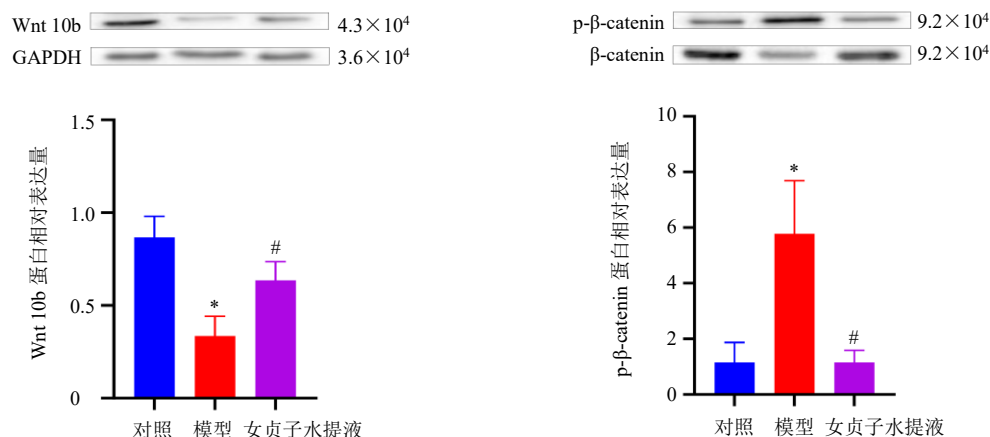


图 5 女贞子水提液对去卵巢小鼠内脏脂肪组织中 Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 5 Effect of *Ligustri Lucidi Fructus* aqueous extract on related proteins expressions of Wnt/β-catenin signaling pathway in visceral adipose tissue of ovariectomized mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

本研究采用经典的双侧去卵巢方法建立绝经后肥胖小鼠模型，发现去卵巢小鼠体质量和体脂相对比率显著增加，血清中 TC、TG 和 LDL-C 水平显著升高，内脏脂肪组织出现脂肪细胞肥大病变，内脏脂肪组织中成脂转录因子 C/EBPα 和 PPARγ 蛋白表达水平显著升高，Wnt 10b 蛋白表达水平显著降低，p-β-catenin/β-catenin 蛋白表达水平显著升高。而女贞子水提液能够抑制去卵巢小鼠体质量和体脂相对比率的增加，调节血脂水平，降低内脏脂肪组织中脂肪生成相关蛋白的表达水平，从而改善去卵巢小鼠的脂代谢。

本研究发现去卵巢小鼠体质量、体脂相对比率以及血清中 TC、TG 和 LDL-C 水平较假手术组显著升高。而女贞子水提液干预后能明显抑制去卵巢小鼠体质量和体脂相对比率的生长，降低血清中 TC、TG 和 LDL-C 水平，与文献报道一致^[17]。研究表明，脂肪细胞肥大导致的白色脂肪组织过度扩张是导致肥胖的重要原因^[23]。本研究通过 HE 染色发现，去卵巢小鼠内脏脂肪组织脂肪细胞较假手术组肥大，而女贞子水提液能够抑制去卵巢小鼠的脂肪细胞肥大。研究也发现，女贞子水提液的主要成分之一红景天苷能够下调高脂诱导的肥胖大鼠附睾脂肪组织中 PPARγ 和 C/EBPα mRNA 表达，从而改善脂代谢紊乱^[24]。红景天苷也能够抑制 3T3-L1 前脂肪细胞的分化和脂肪的生成，其与抑制 PPARγ、C/EBPα、SREBP-1c 和 adiponectin 等脂肪生成转录因子的表达有关^[25]。本研究结果显示，女贞子水提液能够明显降低去卵巢小鼠内脏脂肪组织中

C/EBPα 和 PPARγ 的蛋白表达水平，说明女贞子水提液具有改善去卵巢小鼠脂肪代谢的作用，而红景天苷可能是其物质基础之一。

研究发现，女贞子水提液主要成分之一红景天苷能够激活 Wnt/β-catenin 信号通路，从而诱导小鼠骨髓间充质干细胞向神经元细胞的定向分化^[26]。此外，Li 等^[27]发现红景天苷能够通过 Wnt/β-catenin 信号通路促进脂肪干细胞成骨分化。本课题组前期研究也发现女贞子能够通过激活去卵巢大鼠骨组织 Wnt/β-catenin 信号通路，改善骨质量^[19]。本研究结果显示，女贞子水提液能逆转去卵巢小鼠内脏脂肪组织中 Wnt 10b 和 p-β-catenin/β-catenin 的变化。以上结果说明，女贞子水提液可能通过调控 Wnt/β-catenin 信号通路来抑制去卵巢小鼠脂肪细胞的增殖和分化，进而发挥抗肥胖作用。本课题组也发现女贞子水提液中主要含有红景天苷、女贞苷、麦角甾苷、特女贞苷和橄榄苦苷酸等主要成分^[18]，但是这些成分是否具有抗去卵巢小鼠肥胖的作用尚需进一步研究。

综上所述，女贞子水提液能够改善去卵巢诱发的肥胖小鼠的血脂代谢，抑制白色脂肪过度生成，其作用机制可能与调节 Wnt/β-catenin 信号通路有关。本研究为女贞子的抗肥胖临床应用提供了一定的科学依据，同时对其他抗肥胖药物的机制研究提供了策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Engin A. The definition and prevalence of obesity and metabolic syndrome [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 960: 1-

- 17.
- [2] Newbold R R, Padilla-Banks E, Jefferson W N. Environmental estrogens and obesity [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 304(1/2): 84-89.
- [3] Carr M C. The emergence of the metabolic syndrome with menopause [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(6): 2404-2411.
- [4] 于燕婷, 田立强, 黄国伟, 等. 女性绝经前后内脏脂肪面积与代谢综合征及其组分的关系研究 [J]. *中国慢性病预防与控制*, 2018, 26(3): 184-188.
- [5] Moreno-Mendez E, Quintero-Fabian S, Fernandez-Mejia C, et al. Early-life programming of adipose tissue [J]. *Nutr Res Rev*, 2020, 33(2): 244-259.
- [6] 刘琼, 肖新华. 皮下脂肪组织与内脏脂肪组织 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2013, 33(6): 544-547.
- [7] 尹维文, 张志超, 王小琪, 等. 脂肪细胞的分化形成与天然产物调控 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2020, 41(4): 17-27.
- [8] Rosen E D, Hsu C H, Wang X Z, et al. C/EBPalpha induces adipogenesis through PPARgamma: A unified pathway [J]. *Genes Dev*, 2002, 16(1): 22-26.
- [9] Logan C Y, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20: 781-810.
- [10] 张冰雨, 曾翔翔, 雷涛. 脂代谢与骨代谢相关机制的研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(10): 1263-1266.
- [11] Chung S S, Lee J S, Kim M, et al. Regulation of Wnt/ β -catenin signaling by CCAAT/enhancer binding protein β during adipogenesis [J]. *Obesity*, 2012, 20(3): 482-487.
- [12] Prestwich T C, Macdougald O A. Wnt/ β -catenin signaling in adipogenesis and metabolism [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, 19(6): 612-617.
- [13] 郭鱼波, 马如风, 王丽丽, 等. 女贞子治疗骨质疏松作用及其机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2016, 47(5): 851-856.
- [14] 贾强强, 陈贝贝, 朱如愿, 等. 女贞子对去卵巢大鼠抗骨质疏松作用及其对 GH/IGF-1 信号通路的影响 [J]. *中草药*, 2019, 50(16): 3852-3858.
- [15] 孙雅文, 张明发, 沈雅琴. 女贞子及其活性成分降血糖、调血脂、抗肥胖作用研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2016, 39(6): 1086-1091.
- [16] Chen B B, Wei J P, Zhu R Y, et al. *Fructus Ligustri Lucidi* aqueous extract promotes calcium balance and short-chain fatty acids production in ovariectomized rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279: 114348.
- [17] 郭鱼波, 王丽丽, 马如风, 等. 女贞子水提液对去卵巢大鼠骨结构和骨代谢的影响研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(7): 1155-1162.
- [18] Wang L L, Ma R F, Guo Y B, et al. Antioxidant effect of *Fructus Ligustri Lucidi* aqueous extract in ovariectomized rats is mediated through Nox4-ROS-NF- κ B pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 266.
- [19] Liu H X, Guo Y B, Zhu R Y, et al. *Fructus Ligustri Lucidi* preserves bone quality through induction of canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway in ovariectomized rats [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(1): 424-441.
- [20] Shen H H, Yang C Y, Kung C W, et al. Raloxifene inhibits adipose tissue inflammation and adipogenesis through Wnt regulation in ovariectomized rats and 3T3-L1 cells [J]. *J Biomed Sci*, 2019, 26(1): 62.
- [21] Gao B, Huang Q, Lin Y S, et al. Dose-dependent effect of estrogen suppresses the osteo-adipogenic transdifferentiation of osteoblasts via canonical Wnt signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99137.
- [22] Mota de Sá P, Richard A J, Hang H, et al. Transcriptional regulation of adipogenesis [J]. *Compr Physiol*, 2017, 7(2): 635-674.
- [23] Guilherme A, Virbasius J V, Puri V, et al. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(5): 367-377.
- [24] 张继红, 冯旻璐, 许海燕, 等. 红景天苷通过调节 Nrf2/HO-1 和 PPAR γ /CEBP α 信号通路抑制高脂诱导的大鼠肥胖 [J]. *中药材*, 2020, 43(5): 1211-1216.
- [25] 周继刚, 陈茂华, 李小妹, 等. 红景天苷通过激活 3T3-L1 前脂肪细胞 Nrf2/HO-1 信号通路及下调脂肪生成转录因子表达来抑制脂肪生成 [J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(1): 33-38.
- [26] 郭超, 刘润, 赵红斌, 等. Wnt/ β -catenin 信号通路介导红景天苷诱导间充质干细胞向神经细胞定向分化研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35(3): 349-354.
- [27] Li X H, Chen F L, Shen H L. Salidroside promoted osteogenic differentiation of adipose-derived stromal cells through Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *J Orthop Surg Res*, 2021, 16(1): 456-465.

[责任编辑 李亚楠]