

二仙汤对卵巢切除大鼠棕色脂肪产热相关蛋白表达的影响

曾宁溪¹, 关莉¹, 周乐全¹, 刘海梅¹, 李小英¹, 薛倩倩¹, 徐进文¹, 李润美^{1, 2}
(广州中医药大学基础医学院, 广东广州, 510006; 2. 广州中医药大学中药学院, 广东广州, 510006)

摘要:

目的 研究二仙汤对卵巢切除大鼠肩胛区棕色脂肪中产热相关蛋白表达的影响。**方法** 40 只雌性 SD 大鼠随机分为五组, 分别为假手术组 (SHAM), 卵巢切除模型组 (OVX), 二仙汤低剂量治疗组 (EXDL), 二仙汤高剂量治疗组 (EXDH), 雌激素治疗组 (E), 并分别给予相应的药液连续灌胃给药 14 周。检测各组大鼠血脂四项; H&E 染色观察各组大鼠肩胛区棕色脂肪形态学变化; 应用 Western-blot 及 qPCR 检测各组大鼠肩胛区棕色脂肪中脱偶联蛋白-1 (UCP-1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α) 的蛋白及其 mRNA 的表达水平。**结果** 卵巢切除大鼠体重、腹腔内脂肪重量较假手术组大鼠相比显著增加, 卵巢切除大鼠血清总胆固醇水平较假手术组大鼠显著升高; 二仙汤治疗后可降低卵巢切除大鼠体重及腹腔内脂肪重量并降低血清总胆固醇水平。卵巢切除大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的蛋白及其 mRNA 的表达水平下降, 二仙汤治疗后可提高卵巢切除大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的蛋白及其 mRNA 的表达水平。**结论** 二仙汤可降低卵巢切除大鼠的体重和腹腔内脂肪的重量并降低血清中总胆固醇的水平, 这可能与提高卵巢切除大鼠肩胛区棕色脂肪中产热相关蛋白 UCP-1 及 PGC-1 α 的蛋白及其 mRNA 表达水平有关。

关键词: 二仙汤; 棕色脂肪; 绝经; 脱偶联蛋白-1

The effects of *Erxian* decoction on the expression levels of thermogenesis associated proteins in brown adipose in ovariectomized rats.

ZENG Ningxi¹, GUAN Li¹, ZHOU Lequan¹, LIU Haimei¹, LI Xiaoying¹, XUE Qianqian¹, XU Jinwen¹, LI Runmei^{1, 2} (1. Basic Medicine College, Guangzhou University of Chinese Medicine, 510006; 2. Chinese Medicine College, Guangzhou University of Chinese Medicine, 510006)

Abstract:

Objective This study was conducted to investigate the effects of *Erxian* decoction on the expression levels of thermogenesis associated proteins in interscapular brown adipose tissue in ovariectomized rats. **Methods** Forty female SD rats were randomly divided into five groups including SHAM, OVX, EXDL, EXDH and E groups, and were administrated with relative objects for 14 weeks. Serum lipids levels were tested. By using H&E staining, the morphological differences of interscapular brown adipose tissue between each groups were observed. The protein and mRNA expression levels of UCP-1 and PGC-1 α in brown adipose tissue of each group rats were determined by western-blot and qPCR. **Results** Compared with SHAM group rats, rats in OVX group had higher body weight, intra-abdominal fat weight and serum cholesterol

作者简介: 曾宁溪, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中医药防治肥胖及其机制研究。Email: zengningxi@163.com。通信作者: 李润美, 女, 实验师, 研究方向: 中医药防治肥胖及其机制研究。Email: 2010824@gzucm.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (814014319, 81202718); 广东省高校优秀青年教师培养计划 (yq2014045)

levels. *Erxian* decoction treatment was able to inhibit these effects in ovariectomized rats. The protein and mRNA levels of UCP-1 and PGC-1 α in interscapular brown adipose tissue were significantly reduced in ovariectomized rats. After *Erxian* decoction treatment, the protein and mRNA levels of UCP-1 and PGC-1 α in interscapular brown adipose tissue were significantly increased. **Conclusion** *Erxian* decoction treatment was able to decrease the body weight, intra-abdominal fat weight and serum total cholesterol levels in ovariectomized rats. These effects were associated with the higher expression levels in interscapular brown adipose tissue in ovariectomized rats after *Erxian* decoction treatment.

Key words: *Erxian* decoction; Brown adipose tissue; Menopause; UCP-1

女性在更年期后体重显著增加, 体脂逐渐呈现“向心性”分布变化^[1-2]。大量研究显示这种“向心性肥胖”可诱发糖尿病、心血管疾病、癌症^[3-5]。随着人口增长及寿命延长, 越来越多女性将有相当长的时间在绝经后渡过, 因此有效防治更年期相关的向心性肥胖具有重要意义。中医学认为肾气下降是更年期相关疾病产生的重要原因, 二仙汤由仙茅、仙灵脾、巴戟天、当归、黄柏、知母组成, 有温肾阳、补肾精、泻相火、调冲任之功, 临床中多用于治疗更年期相关疾病^[6-9]。我们之前的研究发现补肾方二仙汤干预更年期大鼠后, 可降低其内脏脂肪的含量及改善其内分泌功能, 提高更年期大鼠胰岛素敏感性^[10]。这些研究提示补肾法可有效干预更年期相关的肥胖, 但其内在机制未明。

脂肪细胞分为两类, 白色脂肪 (white adipose tissue) 和棕色脂肪 (brown adipose tissue)^[11]。白色脂肪的主要功能是以甘油三酯的形式储存能量, 当能量的摄入大于能量的消耗时, 甘油三酯的合成量增多, 白色脂肪堆积, 诱发肥胖。这与中医对肥胖的认识类似, 中医认为肥胖即水湿停滞, 酿成痰湿, 变成膏脂^[12]。膏脂与西医中甘油三酯的概念对应。棕色脂肪的作用与白色脂肪相反, 棕色脂肪通过线粒体中的脱偶联蛋白 1 (UCP-1) 使呼吸链脱偶联将储存的能量转化为热量达到消耗脂肪的效应^[13-14]。研究发现卵巢切除大鼠中肩胛区的棕色脂肪产热功能下降, 表现为产热蛋白 UCP-1 表达水平下降, 棕色脂肪细胞中具有产热功能的线粒体的数量下降^[15], 增加该区的能量代谢水平可能是二仙汤抗肥胖效应的途径之一。基于此, 我们认为二仙汤可能通过增强棕色脂肪产热功能而抵抗脂肪堆积。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α) 同为产热相关蛋白, 能激活 UCP-1 的表达, 调节适应性产热、促进线粒体合成, 增加能量消耗, 减少肥胖的发生^[16]。本研究采用卵巢切除大鼠模型研究二仙汤对肩胛区棕色脂肪中产热相关蛋白 UCP-1 及 PGC-1 α 的蛋白及其 mRNA 表达水平的影响。

1 材料和方法

1.1 动物 SPF 级 SD 大鼠, 雌性, 体质量 (200 $\pm$ 220) g, 购自广州中医药大学实验动物中心, 动物合格证号: SCXK (粤) 2013- 0020。

1.2 药物及试剂 二仙汤的制备方法参照我们之前的研究^[10], 二仙汤原方由仙茅, 淫羊藿, 巴戟天, 当归, 知母, 黄柏组成。各药按照 9:9:6:6:9:9 重量比混合, 以 10 倍体积双蒸水浸泡 12 h, 武火煮沸, 文火煮 0.5 h, 取药液; 再加入与之前等量双蒸水, 武火煮沸, 文火煮 0.5 h, 取药液, 将 2 次药液合并, 55 $^{\circ}$ C 浓缩至所需生药含量, 生药含量分别为 15 mg $\cdot$ mL⁻¹、60 mg $\cdot$ mL⁻¹, 每五天制备 1 次, 储存于 4 $^{\circ}$ C 冰箱。雌激素 (β - Estradiol), 批号: WXBB6560V, 美国 sigma 公

司。UCP-1 抗体,批号:072M4793,美国 Sigma 公司。PGC-1 α 抗体,批号:PA5-22958,美国 Thermo 公司。 β -actin 抗体,批号:122M4770V,美国 Sigma 公司。ECL 化学发光液,批号:1501601,美国 Millipore 公司。

1.3 仪器 生化仪,7060,日本日立公司。SDS-PAGE 电泳仪,PowerPac™,美国 Bio-rad 公司。荧光定量 PCR 仪器,CFX96 Touch™,美国 Bio-rad 公司。

1.4 分组、模型复制及给药方法 取 SD 大鼠 40 只,适应性喂养 3 d 后,随机分为 5 组,每组 8 只,即假手术组(SHAM),模型组(OVX),二仙汤低剂量组(15 mg $\cdot$ kg⁻¹, EXDL),二仙汤高剂量组(60 mg $\cdot$ kg⁻¹, EXDH),雌激素组(0.01 mg $\cdot$ kg⁻¹, E)。参考文献^[10]方法制备卵巢切除模型,卵巢切除术前 12 h 禁食不禁水,10%水合氯醛(300 mg $\cdot$ kg⁻¹)腹腔注射麻醉(约中腹下三分之一),备皮,医用安尔碘消毒腹部皮肤,腹部正中中线开口,大约 1-2 cm,逐层剖开皮肤、皮下组织、肌肉、腹膜。先找到一侧输卵管,在此输卵管的尽头找到卵巢,并切除;相同方法切除另一侧卵巢。青霉素消毒,并逐层缝合肌肉、皮下组织、皮肤。安尔碘消毒。假手术即找到卵巢后不切除卵巢,仅切除卵巢附近少量脂肪。术后 1 周开始灌胃治疗(假手术组和模型组给予等量生理盐水灌胃),假手术组、模型组和二仙汤治疗组每天灌胃 1 次,雌激素组每周灌胃 2 次。连续 14 周。

1.5 血清的保存及血脂的测量 大鼠灌胃 14 周后,禁食 12 h,10%水合氯醛(300 mg $\cdot$ kg⁻¹)腹腔注射麻醉,摘眼球取血约 1 mL,室温静置约 20 min,待完全凝固后,4℃、4500 g 离心 15 min,取血清检测血脂 4 项。

1.6 Western-blot 检测 UCP-1、PGC-1 α 的蛋白表达水平 参照我们之前的研究方法^[17],提取各组大鼠肩胛区棕色脂肪的蛋白质,对 UCP-1, PGC-1 α 进行 Western-blot 检测,以 β -actin 作为内参。常规电泳后 300 mA 转膜 1 h;取出 PVDF 膜,封闭液封闭 1 h;一抗 4℃孵育 12 h (UCP-1, β -actin, PGC-1 α);回收一抗, TBST 洗膜,每次 15 min,重复 3 次;37℃二抗孵育 2 h, TBST 洗膜,每次 15 min,重复 3 次;在暗房用 ECL 化学发光液曝光。

1.7 荧光定量 PCR 检测 UCP-1、PGC-1 α 的 mRNA 相对表达水平 荧光定量 PCR 方法参照我们之前的研究^[17],将各组大鼠肩胛区棕色脂肪标本组织块移至研钵,加入 1~2 mL Trizol,液氮保护下研碎,移至 1.5 mL 离心管,立即提取 RNA 并逆转录为 cDNA,并对 UCP-1 及 PGC-1 α 进行荧光定量 PCR 检测,以 β -actin 作为内参,引物设计如下:

UCP-1: 5' -CCGGTGGATGTGGTAAAAAC-3'

5' - CTCCAAGTCGCCTATGTGGT-3'

PGC-1 α : 5' -TGATGTGAATGACTTGGATACAGACA-3'

5' - GCTCATTGTTGTACTGGTTGGATATG-3'

β -actin: 5' -TCTACAATGAGCTGCGTGTG-3'

5' -TACATGGCTGGGGTGTGAA-3'

反应体系 20 μ L,包括 10 μ L of SYBR® Premix Ex Taq™ (Takara), 0.5 μ L 引物 (10 μ M), 2 μ L cDNA。定量采用 $\Delta\Delta$ CT 方法,以假手术组大鼠的表达量定为 1。

1.8 统计学处理方法 采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析,结果用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。如果方差齐时用 LSD 检验,方差不齐时用 Dunnett's T3 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体重、腹腔内脂肪、子宫重量

表 1 显示 OVX 组大鼠体重、腹腔内脂肪重量与 SHAM 组大鼠比较, OVX 组大鼠大鼠体重、腹腔内脂肪重量增加, 具有统计学意义; EXDL 与 EXDH 组大鼠体重、腹腔内脂肪重量与 OVX 组大鼠比较, EXDL 与 EXDH 组大鼠大鼠体重、腹腔内脂肪重量下降, 具有统计学意义; OVX 组大鼠子宫重量与 SHAM 组大鼠比较, OVX 组大鼠子宫重量下降, 具有统计学意义; EXDL 组与 EXDH 组大鼠子宫重量与 OVX 组比较, EXDL 与 EXDH 组大鼠子宫重量增加, 具有统计学意义。

表 1 各组大鼠体重、腹腔内脂肪、子宫重量比较 ($\bar{X} \pm s, n=8$)

Table 1 The effects of EXD on body weight, body weight gain, intra-abdominal fat weight, retroperitoneal fat

	weight and uterus weight in ovariectomized rats ($\bar{X} \pm s, n=8$)				
	SHAM	OVX	EXDL	EXDH	E
体重/g	298±19.1	384±23.8 *	357±16.2 *, **	336±23.9 *, **	310±26.8 **
体重增加总量/g	81±18.6	158±20.0 *	132±20.2 *, **	111±25.7 *, **	84±27.3 **
腹腔内脂肪重量/g	3.99±0.86	8.93±1.81 *	6.31±1.19 *, **	5.49±1.24 *, **	4.10±0.90 **
腹腔内脂肪相对重量/ g 100g ⁻¹	1.34±0.32	2.36±0.60 *	1.77±0.37 *, **	1.65±0.40 *, **	1.34±0.37 **
子宫重量/g	0.139±0.029	0.029±0.008 *	0.035±0.012 *	0.057±0.038 *, **	0.119±0.038 **
子宫相对重量/g 100g ⁻¹	0.047±0.010	0.008±0.002 *	0.010±0.003 *	0.017±0.010 *, **	0.038±0.011 **

注: * $P<0.05$ 与假手术组相比较; ** $P<0.05$ 与卵巢切除模型组相比较

* $P<0.05$ compared with sham group; ** $P<0.05$ compared with OVX group

2.2 各组大鼠血脂四项

表 2 显示 OVX 组大鼠血清中总胆固醇水平与 SHAM 组大鼠比较, OVX 组大鼠血清中总胆固醇水平上升, 具有统计学意义; EXDL 与 EXDH 组大鼠血清总胆固醇水平与 OVX 组比较, EXDL 与 EXDH 组大鼠血清总胆固醇水平降低, 具有统计学意义。各组大鼠血清中甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇水平无统计学差异。

表2 各组大鼠血脂四项检测 ($\bar{X} \pm s, n=8$)

Table 2 The effects of EXD on serum lipid profiles in ovariectomized rats ($\bar{X} \pm s, n=8$)

	SHAM	OVX	EXTL	EXTH	E
总胆固醇/mmol L ⁻¹	2.035±0.159	2.790±0.260 *	2.378±0.244 *, **	2.366±0.223 *, **	2.185±0.148 *, **
甘油三酯/mmol L ⁻¹	0.510±0.064	0.536±0.071	0.513±0.073	0.502±0.055	0.497±0.063
高密度脂蛋白胆固醇 /mmol L ⁻¹	0.739±0.101	0.707±0.121	0.708±0.114	0.711±0.112	0.752±0.111
低密度脂蛋白胆固醇 /mmol L ⁻¹	0.158±0.028	0.153±0.033	0.152±0.034	0.154±0.027	0.160±0.039

注: * $P<0.05$ 与假手术组相比较; ** $P<0.05$ 与卵巢切除模型组相比较

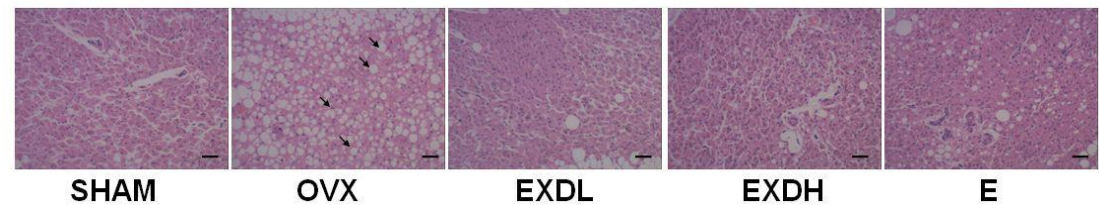
* $P<0.05$ compared with sham group; ** $P<0.05$ compared with OVX group

2.3 各组大鼠肩胛区棕色脂肪 H&E 染色

图 1 显示 OVX 组大鼠肩胛区棕色脂肪内出现大量小空泡，提示棕色脂肪内甘油三酯含量增高。EXDL 及 EXDH 组大鼠肩胛区棕色脂肪未见明显空泡。

图 1 各组大鼠肩胛区棕色脂肪 H&E 染色图

Figure 1 H&E staining of interscapular brown adipose tissue among five groups



注：图中线条长度为 20 μm

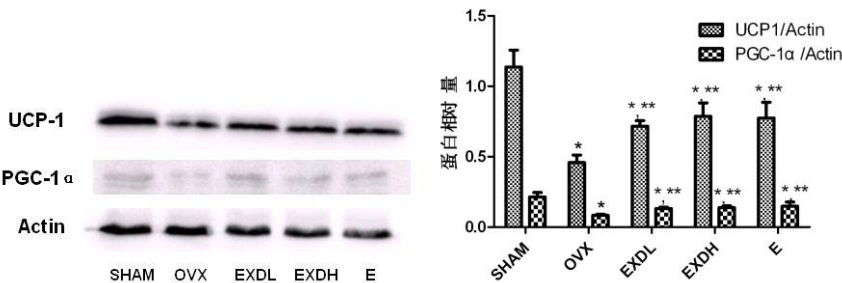
bar 20 μm

2.4 各组大鼠棕色脂肪产热蛋白 UCP-1 及 PGC-1 α 的蛋白表达水平

图 2 显示 OVX 组大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的蛋白表达水平与 SHAM 组比较，OVX 组大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的蛋白表达水平下降，具有统计学意义；EXDL 及 EXDH 组大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的蛋白表达水平与 OVX 组比较，EXDL 及 EXDH 组大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的蛋白表达水平上升，具有统计学意义。

图 2 各组大鼠肩胛区棕色脂肪 UCP-1、PGC-1 α 的蛋白表达水平 (n=3)

Figure 2 UCP-1 and PGC-1 α expression in interscapular brown adipose tissue among five groups (n=3)



注：* $P < 0.05$ 与假手术组相比较；** $P < 0.05$ 与卵巢切除模型组相比较

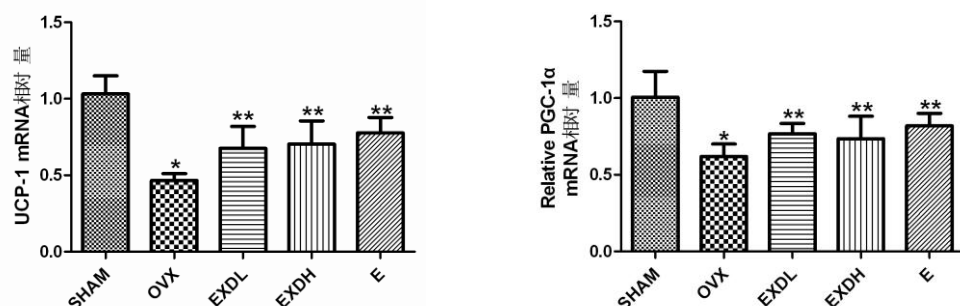
* $P < 0.05$ compared with sham group; ** $P < 0.05$ compared with OVX group

2.5 各组大鼠棕色脂肪产热蛋白 UCP-1 及 PGC-1 α 的 mRNA 相对表达水平

图 3 显示 OVX 组大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的 mRNA 表达水平与 SHAM 组比较，OVX 组大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的 mRNA 表达水平下降，具有统计学意义；EXDL 及 EXDH 组大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的 mRNA 表达水平与 OVX 组比较，EXDL 及 EXDH 组大鼠肩胛区棕色脂肪中 UCP-1 及 PGC-1 α 的 mRNA 表达水平上升，具有统计学意义。

图 3 各组大鼠肩胛区棕色脂肪 UCP-1 与 PGC-1 α 的 mRNA 相对表达量 (n=4)

Figure 3 The expression levels of UCP-1 and PGC-1 α mRNA in interscapular brown adipose tissue among five groups (n=4)



注: * $P < 0.05$ 与假手术组相比较; ** $P < 0.05$ 与卵巢切除模型组相比较

* $P < 0.05$ compared with sham group; ** $P < 0.05$ compared with OVX group

3 讨论

正常人“食而不肥”皆因机体能将能消耗摄入营养物质,维持机体的能量代谢平衡。在绝经期后,天癸已竭,肾气衰退,不能化气行水;脾胃之运化有赖于肾阳的温煦,肾阳不足,则脾胃运化失常而至痰湿内生。女性在更年期后或出现肾气不足或肾阳虚的症状,如:疲劳乏力,少动,形寒肢冷等^[18-19]。这些症状导致更年期后女性能量代谢下降,而能量的摄入却相对增多,最终导致肥胖的发生。我们及其他研究在更年期大鼠模型中均证实卵巢切除后大鼠进食量显著增加、自主活动减少、能量代谢下降,出现疲劳乏力,少动等肾阳虚的症状并最终出现肥胖^[20-21]。

二仙汤由仙茅、仙灵脾、巴戟天、当归、黄柏、知母组成。由于方用仙茅、仙灵脾二药为主,故名“二仙汤”。该方的主要作用之一是温补肾阳。在更年期,肾阳不足可影响脾胃的运化功能而导致肥胖^[22]。我们认为棕色脂肪是脾胃运化的作用途径之一。棕色脂肪可将体内多余的能量物质通过产热的形式消耗而抵抗肥胖。

基于此,我们接下来研究二仙汤对棕色脂肪产热相关蛋白的影响。我们的研究首先发现卵巢切除后大鼠体重、腹腔内脂肪重量显著升高,二仙汤治疗后卵巢切除大鼠体重、腹腔内脂肪的重量下降。这提示二仙汤具有抗更年期大鼠模型肥胖的效应。我们进一步应用H&E染色发现,卵巢切除大鼠肩胛区棕色脂肪中脂肪内小空泡面积增大,提示棕色脂肪内甘油三酯含量增高。二仙汤、雌激素治疗后小空泡的面减小,提示治疗组可显著降低棕色脂肪内甘油三酯的含量。接下来应用Western-blot及qPCR技术发现卵巢切除后大鼠肩胛区棕色脂肪产热相关蛋白UCP-1及PGC-1 α 的蛋白及其mRNA的表达水平较假手术组相比显著下降,二仙汤治疗后可上调卵巢切除大鼠肩胛区棕色脂肪产热相关蛋白UCP-1及PGC-1 α 的蛋白及其mRNA的表达水平。这提示卵巢切除的更年期大鼠棕色脂肪产热功能下降,二仙汤治疗后可通过上调棕色脂肪产热蛋白UCP-1及PGC-1 α 的蛋白及其mRNA表达,从而部分恢复卵巢切除大鼠棕色脂肪的产热功能。

综上所述,我们的结果显示二仙汤可降低卵巢切除的更年期大鼠体重及腹腔内脂肪的重量,这可能与增加大鼠肩胛区棕色脂肪产热功能有关。这些结果提示肾气不足可能导致棕色脂肪产热功能下降而促进更年期女性“向心性”肥胖的发生。

参考文献:

- [1] Palmer BF, Clegg DJ. The sexual dimorphism of obesity[J]. Mol Cell Endocrinol, 2015, 402: 113-119.
- [2] Lovejoy JC, Champagne CM, Jonge LD, et al. Increased visceral fat and decreased energy expenditure during the menopausal transition[J]. International Journal of Obesity, 2008, 32(6):949-958.
- [3] Poloz Y, Stambolic V. Obesity and cancer, a case for insulin signaling [J]. Cell Death and Disease, 2015, 6(12).
- [4] Long MT, Fox CS. The Framingham Heart Study - 67 years of discovery in metabolic disease[J]. Nature Reviews Endocrinol, 2016, 12(3):177-183.
- [5] Smith KB, Smith MS. Obesity Statistics[J]. Primary Care, 2016, 43(1):121-135.
- [6] 上海中医学院. 中医方剂临床手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1982:214
- [7] 杨准叶, 加味二仙汤治疗更年期综合症60例临床观察[J]. 四川中医, 2011, 29(5):91.
- [8] 姜彦珍, 凡艳丽, 二仙汤合逍遥散治疗更年期综合征36例[J]. 实用中医药杂志, 2013, 29(10):824.
- [9] 刘宇宁, 加味二仙汤治疗绝经后骨质疏松症的疗效观察[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(8):886.
- [10] 薛倩倩, 许筱凤, 周乐全, 等. 二仙汤对卵巢切除大鼠胰岛素敏感性的影响[J], 中药新药与临床药理, 2015, 26(5): 600-604.
- [11] Elattar S, Satyanarayana A. Can Brown Fat Win the Battle Against White Fat?[J] Cell Physiol, 2015, 230(10):2311-2317.
- [12] 任莉, 赵仓焕. 浅谈肥胖从肾论治[J]. 四川中医, 2006, 24(6):29-30.
- [13] Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance[J]. Nat Med. 2011, 17(2):200-205.
- [14] Gesta S, Tseng YH, Kahn CR. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source[J]. Cell, 2007, 131(2):242-256.
- [15] Nadal-Casellas A, Proenza AM, Lladó I, et al. Effects of ovariectomy and 17- β estradiol replacement on rat brown adipose tissue mitochondrial function[J]. Steroids, 2011, 76(10-11):1051-1056.
- [16] 李博, 田瑞霞, 杨卫景, 等. PGC-1 α 的功能与代谢病[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2011, 27(11):1013-1018
- [17] Liu HM, Huang SY, Li RM, et al. Andrographolide protects against lipopolysaccharide-induced vascular hyporeactivity by suppressing the expression of inducible nitric oxide in periaortic adipose[J]. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 2013, 62(2):154-159.
- [18] 张清学, 杨冬梓, 王文军, 等. 妇女更年期症状调查结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2004, 11(19): 95-98.
- [19] 陈婉霞, 黄国平. 更年期综合征中医药治疗进展[J]. 临床合理用药, 2013, 6(1):176.
- [20] Rogers NH, Perfield JW, Strissel KJ, et al. Reduced energy expenditure and increased inflammation are early events in the development of ovariectomy-induced obesity[J]. Endocrinology, 2009, 150(5):2161-2168.
- [21] Xu J, Xiang Q, Lin G, et al. Estrogen improved metabolic syndrome through down-regulation of VEGF and HIF-1 α to inhibit hypoxia of periaortic and intra-abdominal fat in ovariectomized female rats[J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(8):8177-8185.
- [22] 尹金磊, 赵长普, 关素珍. 补肾调脾方对女性更年期综合征糖脂代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(24):282-286.