

☆ 机制探讨 ☆

基于 AMPK/mTOR/ULK1 通路探讨电针对
肥胖小鼠肝脏自噬的影响张英溶¹, 周仲瑜^{2,3,4,5}, 夏郡妮¹, 王艺霏¹, 张子怡¹, 廖璐璐¹, 王佳捷^{2,3,4,5}

(¹湖北中医药大学针灸骨伤学院, 武汉 430065; ²湖北省中医院, 武汉 430061; ³湖北中医药大学附属医院, 武汉 430061; ⁴湖北省中医药研究院, 武汉 430061; ⁵湖北省肥胖症针灸诊疗临床医学研究中心, 武汉 430061)

【摘要】 目的:探讨电针调控腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)/unc-51样自噬激活激酶1(ULK1)信号通路对肥胖小鼠肝脏自噬的影响。**方法:**C57BL/6J小鼠随机分为正常组、模型组和电针组,每组8只,采用高脂饲料喂养建立肥胖小鼠模型。电针组取双侧“足三里”“天枢”电针干预,每次30 min,每周5次,持续4周。观察治疗前后各组小鼠Lee's指数及体质量变化;测定空腹血糖;进行胰岛素耐量实验,计算曲线下面积(AUC)值;ELISA法检测空腹胰岛素和血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量,计算胰岛素抵抗指数;称量肠系膜白色脂肪组织和肝脏组织质量;HE染色法观察各组小鼠肠系膜白色脂肪组织及肝脏组织形态学变化;油红O染色观察各组小鼠肝脏组织脂质沉积变化;采用透射电镜观察肝脏组织超微结构;Western blot法检测各组小鼠肝脏组织磷酸化(p)-AMPK/AMPK、p-mTOR/mTOR、ULK1、微管相关蛋白1轻链3-II型(LC3-II)、自噬相关基因5(Atg5)、自噬相关基因7(Atg7)、选择性自噬衔接蛋白(SQSTM1/p62)的蛋白表达;实时荧光定量PCR法检测各组小鼠肝脏组织AMPK、mTOR、ULK1、LC3-II、Atg5、Atg7、p62 mRNA表达。**结果:**与正常组比较,模型组小鼠Lee's指数、体质量、空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数及胰岛素耐量实验AUC值显著升高($P<0.01$),血清TG、TC、LDL-C含量增加($P<0.01$),血清HDL-C含量降低($P<0.01$),腹部白色脂肪组织和肝脏组织质量增加($P<0.01$);肠系膜白色脂肪组织脂肪细胞直径明显增大、单位面积细胞数目减少;肝细胞肿大、排列紊乱,出现大量脂滴空泡;可见大量橘红色脂质沉积;线粒体皱缩,自噬空泡减少;肝脏组织AMPK mRNA和p-AMPK/AMPK蛋白表达减少($P<0.01$),mTOR mRNA和p-mTOR/mTOR蛋白表达增加($P<0.01$),ULK1、LC3-II、Atg5及Atg7的mRNA和蛋白表达减少($P<0.01$),p62 mRNA和蛋白表达增加($P<0.01$)。与模型组比较,电针组小鼠Lee's指数、体质量、空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数及胰岛素耐量实验AUC值均显著降低($P<0.01$),血清TG、TC、LDL-C含量减少($P<0.01$),血清HDL-C含量升高($P<0.01$),腹部白色脂肪组织和肝脏组织质量减少($P<0.01$, $P<0.05$);肠系膜白色脂肪组织脂肪细胞直径减小,单位面积内细胞数目增加;肝细胞内未见明显脂滴空泡;橘红色脂质沉积减少;线粒体结构正常,自噬空泡增加,可见少量自噬小体和自噬溶酶体;肝脏组织AMPK mRNA和p-AMPK/AMPK蛋白表达增加($P<0.01$),mTOR mRNA和p-mTOR/mTOR蛋白表达减少($P<0.01$),ULK1、LC3-II、Atg5及Atg7的mRNA和蛋白表达增加($P<0.01$),p62 mRNA和蛋白表达减少($P<0.01$)。**结论:**电针“足三里”“天枢”可促进肥胖小鼠肝脏自噬,其机制可能与调控AMPK/mTOR/ULK1信号通路相关。

【关键词】 肥胖;电针;AMPK/mTOR/ULK1信号通路;自噬

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20250909

引用格式:张英溶,周仲瑜,夏郡妮,等.基于AMPK/mTOR/ULK1通路探讨电针对肥胖小鼠肝脏自噬的影响[J].针刺研究,2026,51(8):955-967.

项目来源:湖北省科技计划项目(No.2025BCB024);武汉市科技局知识创新专项项目(No.2023020201010172);湖北中医药大学“双一流”建设重点类专项科研项目(No.2023ZZXT005);第七批全国老中医药专家学术经验继承项目(No.国中医药办人教函[2021]272号);国家中医药管理局全国名老中医(王华教授)传承工作室项目(No.QZ202301);湖北省科技厅国际科技合作项目(No.2022EHB054)

通信作者:王佳捷, E-mail:27717685@qq.com

Effect of electroacupuncture on hepatic autophagy in obese mice based on the AMPK/mTOR/ULK1 pathway

ZHANG Ying-rong¹, ZHOU Zhong-yu^{2,3,4,5}, XIA Jun-ni¹, WANG Yi-fei¹, ZHANG Zi-yi¹, LIAO Lu-lu¹, WANG Jia-jie^{2,3,4,5}

(¹College of Acupuncture-Moxibustion and Orthopedics, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

²Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061; ³Affiliated Hospital of Hubei University of

Chinese Medicine, Wuhan 430061; ⁴Hubei Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061; ⁵Hubei

Provincial Clinical Research Center for Acupuncture and Moxibustion in Diagnosis and Treatment of Obesity, Wuhan 430061)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of electroacupuncture (EA) on hepatic autophagy in obese mice by regulating the adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)/mammalian target of rapamycin (mTOR)/unc-51 like autophagy activating kinase 1 (ULK1) signaling pathway. **Methods** C57BL/6J mice were randomly divided into normal group, model group and EA group, with 8 mice in each group. The obese mice model was established by feeding high-fat diet. Mice in the EA group received EA at bilateral “Zusanli” (ST36) and “Tianshu” (ST25) for 30 min, 5 times a week for 4 consecutive weeks. The Lee’s index and body mass of mice in each group were observed before and after treatment; fasting serum glucose was measured; the insulin tolerance test (ITT) was performed, and the area under the curve (AUC) was calculated; the levels of fasting insulin, serum low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), total cholesterol (TC), and triacylglycerol (TG) were detected by ELISA, and the insulin resistance index was calculated; the mass of mesenteric white adipose tissue (mWAT) and liver tissue was weighed; the morphological changes of mWAT and liver tissue were observed by HE staining; the lipid deposition in the liver tissue was observed by Oil Red O staining; the ultrastructure of liver tissue was observed by transmission electron microscopy; the protein expressions of p-AMPK/AMPK, p-mTOR/mTOR, ULK1, microtubule-associated protein 1 light chain 3 type II (LC3-II), autophagy-related 5 (Atg5), autophagy-related 7 (Atg7), and sequestosome 1 (SQSTM1/p62) in liver tissue were detected by Western blot; the mRNA expressions of AMPK, mTOR, ULK1, LC3-II, Atg5, Atg7, and p62 in liver tissue were detected by quantitative real-time PCR. **Results** Compared with the normal group, the model group showed significant increases in Lee’s index, body mass, fasting blood glucose, fasting insulin, insulin resistance index, and ITT-AUC ($P<0.01$); increased serum TG, TC, and LDL-C levels ($P<0.01$); decreased serum HDL-C level ($P<0.01$); increased mWAT and liver mass ($P<0.01$); enlarged adipocytes with reduced cell number per unit area in mWAT; swollen and disorganized hepatocytes with numerous lipid droplets and vacuoles; extensive orange-red lipid deposition; mitochondrial shrinkage and reduced autophagic vacuoles; decreased AMPK mRNA and p-AMPK/AMPK protein expression ($P<0.01$); increased mTOR mRNA and p-mTOR/mTOR protein expressions ($P<0.01$); decreased mRNA and protein expressions of ULK1, LC3-II, Atg5, and Atg7 ($P<0.01$); and increased mRNA and protein expression of p62 ($P<0.01$). Compared with the model group, the EA group showed significant reductions in Lee’s index, body mass, fasting blood glucose, fasting insulin, insulin resistance index, and ITT-AUC ($P<0.01$); decreased serum TG, TC, and LDL-C levels ($P<0.01$); increased serum HDL-C level ($P<0.01$); reduced mWAT and liver mass ($P<0.01$, $P<0.05$); decreased adipocyte diameter and increased cell number per unit area in mWAT; no obvious lipid droplets or vacuoles in hepatocytes; reduced orange-red lipid deposition; normal mitochondrial structure, increased autophagic vacuoles, and occasional autophagosomes and autolysosomes; increased AMPK mRNA and p-AMPK/AMPK protein expressions ($P<0.01$); decreased mTOR mRNA and p-mTOR/mTOR protein expressions ($P<0.01$); increased mRNA and protein expressions of ULK1, LC3-II, Atg5, and Atg7 ($P<0.01$); and decreased mRNA and protein expressions of p62 ($P<0.01$). **Conclusion** EA at ST36 and ST25 can promote hepatic autophagy in obese mice, and its mechanism may be related to the regulation of the AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway.

[KEYWORDS] Obesity; Electroacupuncture; AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway; Autophagy

肥胖已成为全球性公共卫生问题,且患病率逐年攀升。世界肥胖联盟发布《2025世界肥胖地图》数据预测^[1],全球肥胖成年人口数量将从2010年的5.24亿增加至2030年的11.3亿,增幅超过115%。而我国至

2030年,成人超重/肥胖人数将达5.1504亿。肥胖不仅是一种疾病,更是多种威胁健康的非传染性疾病的重要危险因素,如2型糖尿病、代谢相关脂肪性肝病、中风等,每年因肥胖导致的过早死亡人数可达160万

人。肥胖更对社会经济造成极大负担,数据显示,2020年肥胖/超重的经济影响达1.96万亿美元,占全球经济GDP的2.4%,而到2035年预计将增至4.32万亿美元。

肝脏在能量代谢中扮演着重要角色。肥胖状态下,肝脏脂肪过度积累,代谢功能紊乱,导致胰岛素敏感性降低,脂质氧化减少,恶性循环进一步加剧肝脏的脂肪累积,最终导致胰岛素抵抗甚至出现代谢综合征^[2-4]。

自噬作为关键的细胞过程,可通过溶酶体途径降解受损的细胞器和蛋白质,维持细胞稳态^[5]。肝脏是代谢调节的核心器官,肝细胞通过自噬降解回收过量脂质和受损细胞器,防止有毒脂质中间体的积累,减少氧化应激,对于维持糖异生、糖原分解和脂肪酸氧化等功能稳态,预防代谢相关脂肪性肝病至关重要^[6-8]。肥胖状态下肝脏自噬功能受损,脂质分解受抑制,导致脂质在肝细胞内过度积累,影响线粒体功能,加剧氧化应激和炎症反应^[9]。腺苷酸激活蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)/unc-51样自噬激活激酶1(unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1)通路是调控自噬的关键信号通路,AMPK作为能量感受器,能通过抑制mTOR活性,激活ULK1,促进自噬^[7,10]。研究^[11]表明,小鼠高脂饮食喂养会抑制AMPK磷酸化并诱导mTOR磷酸化,导致自噬功能下降,而上调AMPK、ULK1信号表达,抑制mTOR信号表达,则可显著减轻肥胖小鼠体重,改善肝脏脂质沉积^[12]。

前期研究^[13-14]表明,电针可有效减轻肥胖小鼠体重,改善糖脂代谢,达到防治肥胖的目的。因此,本研究拟进一步探索电针是否通过AMPK/mTOR/ULK1信号通路促进肝脏自噬,起到防治肥胖的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

38只SPF级C57BL/6JNifdc雄性小鼠,6周龄,体重(20±2)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司湖北分公司提供,生产许可证号:SCXK(鄂)2022-0030,饲养于湖北省中医院动物实验中心,室温(22±2)℃,相对湿度(55±10)%,每日光照时长12h。所有小鼠经过为期1周的适应性喂养后开始造模。采用随机数字表法将小鼠分为正常组、模型组、电针组,每组8只。本研究经湖北省中医院动物

实验伦理委员会审批通过,伦理号:鄂中医院动(福)第202401号。实验中对小鼠的所有操作均严格遵循中华人民共和国科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》及相关动物伦理规定^[15-16]。

1.2 主要仪器与试剂

电转仪(DYCZ-40,北京六一),冷冻高速离心机(H1-16K,湖南可成),Multiskan FC型酶标仪(1410101,美国Thermo scientific),多功能分析电子天平(FA1204,常州幸运电子设备),实时荧光定量PCR仪(PR-96,杭州米欧),0.30 mm×13 mm一次性无菌针灸针(苏州针灸用品),电针治疗仪(HANS-200,北京华运安特),冰冻切片机(CM3050S)、病理切片机(RM 2016)均购自德国Leica,生物显微镜(Fi3型,日本尼康),透射电子显微镜(JEM-1400FLASH,日本JEOL),血糖仪(929,上海罗氏)。

苏木精(美国Sigma),油红O(美国Amresco),水溶性封片剂(美国SouthernBiotech),磷酸酶抑制剂、RIPA裂解液(大连美仑),2.5%戊二醛(国药集团),丙酮(汕头西陇),胞质胞核蛋白提取试剂盒(南京凯基),BCA蛋白浓度测定试剂盒(广州鼎国),组织细胞RNA提取试剂盒、SYBR Green实时荧光定量PCR预混液(南京诺唯赞),蛋白marker(美国GenScript),兔多抗GAPDH抗体(上海碧云天),PVDF膜(美国Millipore),HRP标记羊抗兔二抗(武汉博士德),小鼠胰岛素ELISA试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)ELISA试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)ELISA试剂盒、总胆固醇(total cholesterol, TC)ELISA试剂盒、甘油三酯(triacylglycerol, TG)ELISA试剂盒(武汉赛培),兔多抗AMPK、磷酸化(phosphorylated, p)-AMPK、p-mTOR、mTOR、ULK1、微管相关蛋白1轻链3-II型(microtubule-associated protein 1 light chain 3 type II, LC3-II)、自噬相关基因5(autophagy-related 5, Atg5)、自噬相关基因7(autophagy-related 7, Atg7)、选择性自噬衔接蛋白(sequestosome 1, SQSTM1/p62)抗体均购自武汉三鹰,60%脂肪供能高脂饲料(武汉鼠来宝生物)。

1.3 模型制备

建立营养型肥胖小鼠模型^[13],实验开始前用普通饲料适应性喂养1周。随机取30只造模小鼠给

予高脂饲料喂养(60%脂肪供能高脂饲料,纯化型XTHF60),另8只小鼠给予普通饲料喂养作为对照纳入正常组。小鼠在造模期间均可自由摄食饮水,每日更换饲料和水,共喂养8周。8周结束后测量小鼠体质量,以造模小鼠体质量超过普通饲料喂养小鼠平均体质量的20%为造模成功标准。最终16只造模成功的肥胖小鼠采用随机数字表法被分为模型组和电针组,每组8只。

1.4 干预方法

电针组小鼠继续以高脂饲料喂养,进行电针干预。腧穴选取小鼠双侧“足三里”“天枢”,“足三里”位于后肢膝关节后外侧,在腓骨小头下2 mm左右,“天枢”位于小鼠前正中线旁开5 mm,耻骨联合以上20 mm区域内^[13,17]。仰卧位固定小鼠,针刺部位常规消毒,采用0.30 mm×13 mm一次性无菌针灸针直刺腧穴3 mm左右^[13],连接HANS-200型电针仪,左侧“足三里”“天枢”接正极,右侧“足三里”“天枢”接负极,疏密波,频率2 Hz/15 Hz,强度1 mA,每次30 min,每周周一至周五连续治疗5次,共4周。正常组小鼠继续以普通饲料喂养,模型组小鼠以高脂饲料喂养,予以电针组相同的抓取和固定,不做其他干预,持续4周。

1.5 观察指标及检测方法

测量体质量并计算Lee's指数:实验期间,每日观察小鼠的生长状况,治疗前和4周治疗结束后对小鼠体长、体质量进行测量, Lee's 指数 = $\sqrt[3]{\text{体质量}(\text{g}) \times 10^3 \div \text{体长}(\text{cm})}$ 。

空腹血糖及胰岛素耐量实验:小鼠禁食8 h,自由饮水。用剪刀剪去小鼠尾巴末端约1~2 mm,轻轻挤压小鼠尾部取血1滴,用血糖仪测定血糖,测定值认定为0 min的血糖值,即空腹血糖。小鼠适应30 min之后,腹腔注射0.75 U/kg的胰岛素溶液。在注射后15、30、60、120 min测定每只小鼠的血糖值,绘制小鼠各个时间段血糖值折线图,计算曲线下面积(area under the curve, AUC)值。

ELISA法检测空腹胰岛素和血脂四项水平:小鼠最后1次治疗后禁食12 h,自由饮水。2%戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉小鼠,摘眼球取血。血液在室温下静置30 min后,置于高速离心机,4℃,3 000 r/min,离心半径10 cm,5 min/次,离心2次,取血清。按照各ELISA试剂盒说明书进行操作,将已平衡至室温的标准品和待测血清样本加入预包被板孔中(每孔100 μL),加入酶标抗体工作液,37℃避光孵育60 min,加入TMB底物溶液,37℃避

光孵育15 min,加入终止液,溶液颜色由蓝变黄。用酶标仪在450 nm波长下测定吸光度值,通过标准曲线计算样本中胰岛素和LDL-C、HDL-C、TC、TG含量,并计算胰岛素抵抗指数。胰岛素抵抗指数=空腹血糖(mmol/L)×空腹胰岛素(mIU/L)÷22.5。

测量肠系膜白色脂肪组织和肝脏组织质量:小鼠取血后打开腹腔,钝性分离肠系膜白色脂肪组织,用电子天平称取质量;暴露肝脏组织,用剪刀快速剪取,用电子天平称取质量;然后用剪刀快速剪取1 mm×1 mm×1 mm大小肝脏组织,放入2.5%戊二醛固定液中固定,普通4℃冰箱保存,以待后续透射电镜观察;剩余的肝脏组织一部分放置于EP管中,放入液氮速冻,置于-80℃超低温冰箱储存,一部分放入4%多聚甲醛溶液中固定,以待HE和油红O染色。将称取完质量的一部分脂肪组织放置于EP管中,放入液氮速冻,置于-80℃超低温冰箱储存,一部分放入4%多聚甲醛溶液中固定,以待HE染色。

HE染色观察小鼠肠系膜白色脂肪组织及肝脏组织形态学变化:取出置于4%多聚甲醛溶液中固定的各组小鼠肠系膜白色脂肪组织及肝脏组织,用蒸馏水洗涤,放入70%乙醇过夜;经脱水、透明、石蜡包埋、切片(厚度为4~5 μm)和脱蜡后,进行HE染色,显微镜下观察小鼠肠系膜白色脂肪组织及肝脏组织形态学变化。采用Image J软件计算单位面积内脂肪细胞总面积。

油红O染色观察小鼠肝脏组织形态学变化:取出置于4%多聚甲醛溶液中固定的各组小鼠肝脏组织,OTC包埋,制作冰冻切片(厚度8~10 μm),甲醛-钙固定10 min,蒸馏水洗,60%异丙醇浸洗,油红O染液染10 min,60%异丙醇分色至背景无色,蒸馏水洗,苏木精复染数分钟,水洗(蓝化)1~3 min,蒸馏水洗后水溶性封片剂封片,显微镜下观察肝脏脂质沉积情况。

透射电镜观察肝脏组织超微结构:取出置于2.5%戊二醛固定液中固定的肝脏组织,丙酮逐级脱水,脱水剂和Epon-812包埋剂依次浸透、包埋,用超薄切片机做60~90 nm超薄切片捞至铜网上,先用醋酸铀染色10~15 min,再用柠檬酸铅染色1~2 min,室温下染色,透射电镜观察肝脏组织超微结构(线粒体结构、脂滴、自噬溶酶体、自噬小体等),采集图像。

Western blot法检测肝脏组织AMPK-mTOR-ULK1信号通路(AMPK、p-AMPK、mTOR、

p-mTOR、ULK1 蛋白)及自噬相关蛋白(LC3-Ⅱ、p62、Atg5、Atg7)的表达情况:称取置于-80℃超低温冰箱储存的小鼠肝脏组织 50 mg, RIPA 裂解液裂解,采用自动匀浆机匀浆,匀浆后将 EP 管置于冰上裂解,裂解 30 min 后,在 4℃下 12 000 r/min,离心半径 10 cm,离心 5 min,取上清,采用 BCA 法测定蛋白浓度。加入 5×蛋白上样缓冲液(体积比按照 4:1 混合),沸水浴 10 min,使蛋白变性。配制凝胶。在电泳、转膜后,用含 5% 脱脂奶粉的 TBST(封闭液)浸泡 PVDF 膜,室温摇床封闭 2 h,用封闭液稀释相应的一抗, GAPDH (1: 10 000), AMPK、p-AMPK、mTOR、LC3-Ⅱ、p62、Atg7 (1: 1 000), p-mTOR (1: 500), ULK1 (1: 2 000), Atg5 (1: 6 000), 使 PVDF 膜浸泡于一抗孵育液中, 4℃孵育过夜, TBST 充分洗涤 PVDF 膜 5 次, 5 min/次。用 TBST 稀释相应的 HRP 标记二抗 (1: 10 000 稀释), 将 PVDF 膜浸泡于二抗孵育液中, 室温摇床孵育 2 h。ECL 法检测印迹信号。采用 Image-Pro Plus 分析胶片灰度值,以 GAPDH 为内参,以目的蛋白与内参蛋白条带灰度值的比值为目的蛋白相对表达量。

实时荧光定量 PCR 法检测肝脏组织 AMPK-mTOR-ULK1 信号通路(AMPK、mTOR、ULK1)及自噬相关基因(LC3-Ⅱ、p62、Atg5、Atg7)的 mRNA 表达水平:称取置于-80℃超低温冰箱储存的小鼠肝脏组织 50 mg,匀浆。采用组织细胞 RNA 提取试剂盒提取组织总 RNA。测定 RNA 浓度及质量后,使用反转录试剂盒以组织总 RNA 为模板,反转录成 cDNA,按照试剂盒说明书配制 10 μL 扩增体系(2 μL 的 cDNA、0.2 μL Forward Primer、0.2 μL Reverse Primer、5 μL SYBR Green Master Mix、0.2 μL 50×ROX Reference Dye 2、2.4 μL ddH₂O)。用实时荧光定量 PCR 仪按以下反应条件进行定量 PCR 检测:预变性 95℃ 10 min 循环 1 次,变性 95℃ 15 s,循环 40 次,退火延伸 60℃ 60 s,循环 40 次。熔解曲线程序:60℃ 60 s, 95℃ 15 s,循环 1 次,以 GAPDH 为内参基因,采用 2^{-ΔΔC_t} 法计算 AMPK、mTOR、ULK1、LC3-Ⅱ、p62、Atg5、Atg7 mRNA 的相对表达量。引物序列见表 1。

1.6 统计学处理

使用 SPSS27.0 和 GraphPad Prism 9.5 软件处理数据。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,当数据符合正态分布且方差齐时,多组间比较用单因素方差分析,两两比较使用 LSD 法;若方差不齐用 Games-Howell 检验。数据不符合正态分布时,采用

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物长度/ bp
AMPK	上游 ACCTGGTGACAATCGGAGC 下游 GGTGGTGGGTATCAACGGG	299
mTOR	上游 CTGCACTTGTGTGCTTGCCTCC 下游 TGGTCTAGCGTGCGAACAAT	164
ULK1	上游 ATTGCCACTGTGCTTGGTTGTA 下游 CCAGTTGGCCACAAAGCAATA	129
LC3-Ⅱ	上游 GACCCTAACCCCATAGGAGC 下游 TCTCCCCCTTGTATCGCTCT	109
p62	上游 CCTTGCCCTACAGCTGAGTC 下游 CATGTTCCACATCAATGTCAACC	133
Atg5	上游 CAGATGGACAGCTGCACACAC 下游 GGGTTTCCAGCATTGGCTCTA	126
Atg7	上游 TTGTAGCACCTGCTGACCTG 下游 CCTGGAGCCACCACATCATT	94
GAPDH	上游 TGTGAACGGATTTGGCCGTA 下游 ACTGTGCCGTTGAATTGCGC	159

注:AMPK 为腺苷酸激活蛋白激酶,mTOR 为哺乳动物雷帕霉素靶蛋白,ULK1 为 unc-51 样自噬激活激酶 1,LC3-Ⅱ 为微管相关蛋白 1 轻链 3-Ⅱ 型,p62 为选择性自噬衔接蛋白,Atg5 为自噬相关基因 5,Atg7 为自噬相关基因 7。

Kruskal-Wallis *H* 秩和检验。以 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

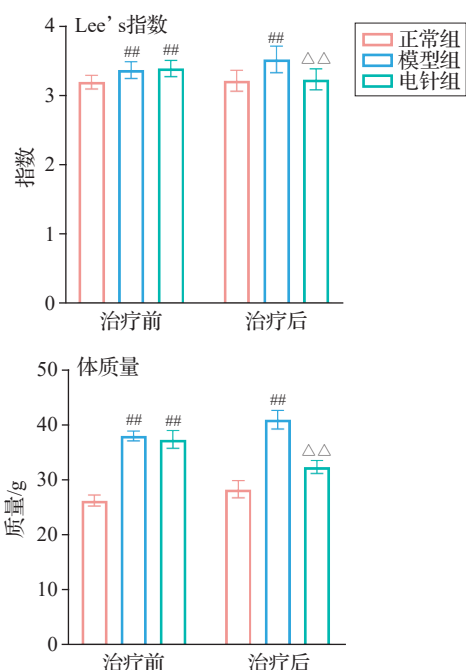
2 结果

2.1 各组小鼠 Lee's 指数及体质量比较

治疗前,与正常组比较,模型组和电针组小鼠 Lee's 指数增加、体质量明显增长($P<0.01$),提示造模成功;模型组、电针组小鼠 Lee's 指数及体质量差异无统计学意义。治疗后,与正常组比较,模型组小鼠 Lee's 指数及体质量明显增加($P<0.01$);与模型组比较,电针组 Lee's 指数及体质量明显减小($P<0.01$)。见图 1。

2.2 各组小鼠糖代谢相关指标比较

与正常组比较,模型组小鼠空腹血糖、空腹胰岛素水平和胰岛素抵抗指数均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠空腹血糖、空腹胰岛素水平和胰岛素抵抗指数均下降($P<0.01$)。进一步进行胰岛素耐量实验,检测结果显示,与正常组小鼠比较,模型组小鼠 AUC 值升高($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠 AUC 值降低($P<0.01$)。



注:与同时点正常组比较, ^{##} $P<0.01$;与同时点模型组比较, ^{△△} $P<0.01$ 。

图1 各组小鼠治疗前后 Lee's 指数、体质量比较
($\bar{x}\pm s$, 8 只鼠/组)

Fig. 1 Comparison of Lee's index and body weight before and after treatment of mice in the 3 groups
($\bar{x}\pm s$, 8 mice/group)

见图2、图3。

2.3 各组小鼠脂代谢相关指标比较

与正常组比较,模型组小鼠血清TC、TG、LDL-C含量均显著升高,HDL-C含量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠血清TC、TG、LDL-C含量均下降,HDL-C含量上升($P<0.01$)。见图4。

2.4 各组小鼠肠系膜白色脂肪组织和肝脏组织质量比较

与正常组比较,模型组小鼠肠系膜白色脂肪组

织和肝脏组织质量显著增加($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠肠系膜白色脂肪组织和肝脏组织质量显著减轻($P<0.01$, $P<0.05$)。见图5。

2.5 各组小鼠肠系膜白色脂肪组织和肝脏组织形态学观察

脂肪组织HE染色可见,与正常组比较,模型组小鼠肠系膜白色脂肪组织脂肪细胞直径明显增加,脂肪细胞面积显著增大,单位面积内脂肪细胞数量减少;与模型组比较,电针组脂肪细胞直径减小,脂肪细胞面积减小,单位面积细胞数目显著增加。采用Image J软件计算单位面积内各组脂肪细胞总面积,与正常组比较,模型组小鼠肠系膜白色脂肪细胞面积显著增加($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠肠系膜白色脂肪细胞面积显著减小($P<0.01$)。见图6。

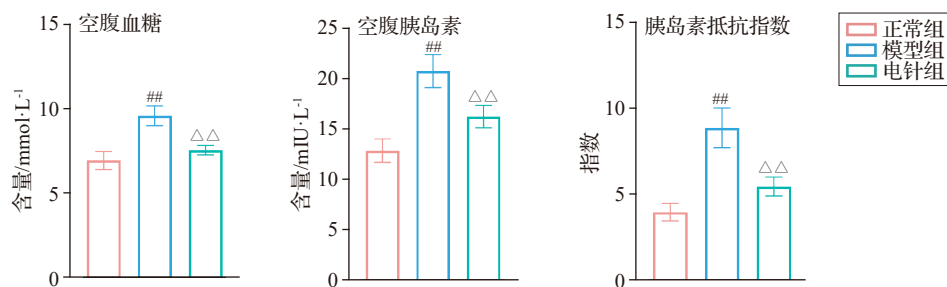
肝脏HE染色结果可见,正常组小鼠肝组织结构正常,肝细胞彼此连接形成肝索,肝细胞大而饱满,细胞核居中,细胞无脂肪变性,肝窦结构规则。模型组小鼠肝细胞肿大,排列紊乱,细胞质内出现大量脂滴空泡,细胞核变小,分布不居中,肝索排列不整齐,肝窦受挤压变小。电针组小鼠肝细胞内未见明显脂滴空泡,细胞核居中。见图7。

2.6 各组小鼠肝脏组织脂质沉积变化

肝脏组织油红O染色结果可见,正常组小鼠肝细胞排列整齐,无橘红色脂质沉积。与正常组比较,模型组小鼠肝细胞排列紊乱,可见大量橘红色脂质沉积。电针组肝细胞橘红色脂质沉积较模型组减少。见图8。

2.7 各组小鼠肝脏组织超微结构观察

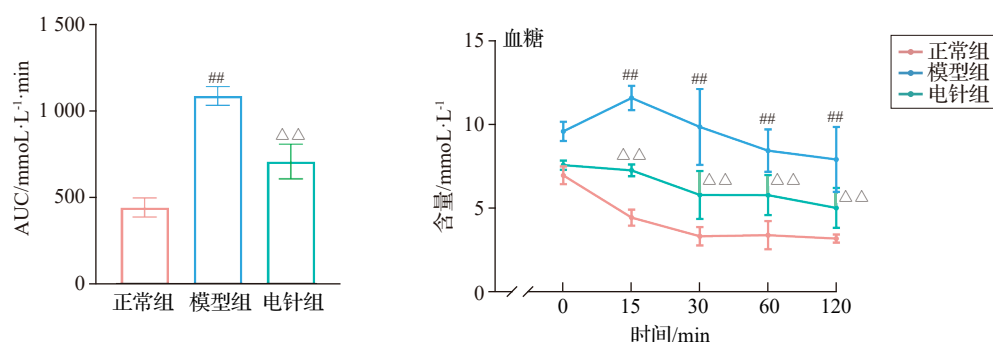
透射电镜下,正常组小鼠肝细胞形态结构较正常,胞质内线粒体结构正常,呈长条形或圆形,嵴结构清晰、排列整齐,基质均匀,呈均一的灰黑色,胞质内还含少量自噬体、初级溶酶体、脂滴和较多糖



注:与正常组比较, ^{##} $P<0.01$;与模型组比较, ^{△△} $P<0.01$ 。

图2 各组小鼠空腹血糖、空腹胰岛素水平及胰岛素抵抗指数比较($\bar{x}\pm s$, 8 只鼠/组)

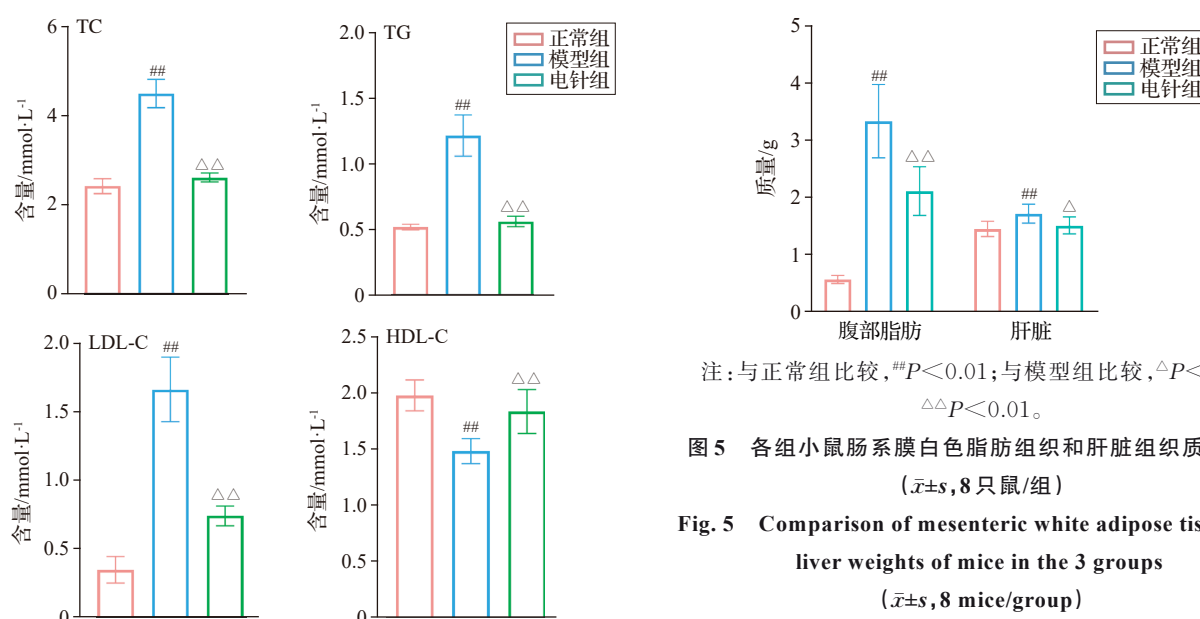
Fig. 2 Comparison of fasting blood glucose, fasting insulin levels and insulin resistance index of mice in the 3 groups
($\bar{x}\pm s$, 8 mice/group)



注:AUC为曲线下面积。与同时点正常组比较,^{##} $P<0.01$;与同时点模型组比较,^{△△} $P<0.01$ 。

图3 各组小鼠胰岛素耐量实验AUC值及不同时间段空腹血糖比较($\bar{x}\pm s$, 8只鼠/组)

Fig. 3 Comparison of AUC values of insulin tolerance test and fasting blood glucose levels at different time points of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 8 mice/group)



注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{△△} $P<0.05$,
^{△△} $P<0.01$ 。

图5 各组小鼠肠系膜白色脂肪组织和肝脏组织质量比较($\bar{x}\pm s$, 8只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of mesenteric white adipose tissue and liver weights of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 8 mice/group)

注:TC为总胆固醇,TG为甘油三酯,LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇,HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇。与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{△△} $P<0.01$ 。

图4 各组小鼠血清TC、TG、LDL-C、HDL-C含量比较($\bar{x}\pm s$, 8只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of serum TC, TG, LDL-C, and HDL-C contents of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 8 mice/group)

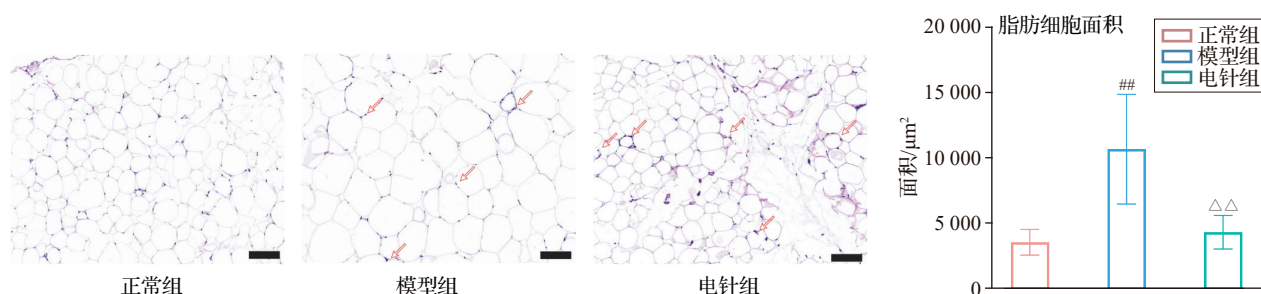
原颗粒,细胞膜连续完整。模型组小鼠肝细胞形态结构明显异常,胞质内线粒体发生皱缩,体积缩小,嵴结构排列不整齐,膜密度增高,胞质见大量初级溶酶体和脂滴堆积,还可见少量糖原颗粒,未见自噬小体、初级溶酶体。电针组小鼠肝细胞形态结构轻微异常,胞质内线粒体结构正常,呈椭圆形或圆形,嵴结构清晰、排列整齐,基质均匀,呈均一的灰黑色,外膜连续完整,胞质内还含较多自噬小体、少量初级溶酶体和脂滴及大量糖原颗粒。见图9。

2.8 各组小鼠肝脏组织AMPK-mTOR-ULK1信号通路mRNA和蛋白表达比较

与正常组比较,模型组小鼠肝脏组织AMPK、ULK1 mRNA和p-AMPK/AMPK、ULK1蛋白表达减少($P<0.01$),mTOR mRNA和p-mTOR/mTOR蛋白表达增加($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠肝脏组织AMPK、ULK1 mRNA和p-AMPK/AMPK、ULK1蛋白表达增加($P<0.01$),mTOR mRNA和p-mTOR/mTOR蛋白表达减少($P<0.01$)。见图10。

2.9 各组小鼠肝脏组织LC3-II、Atg5、Atg7、p62的mRNA和蛋白表达比较

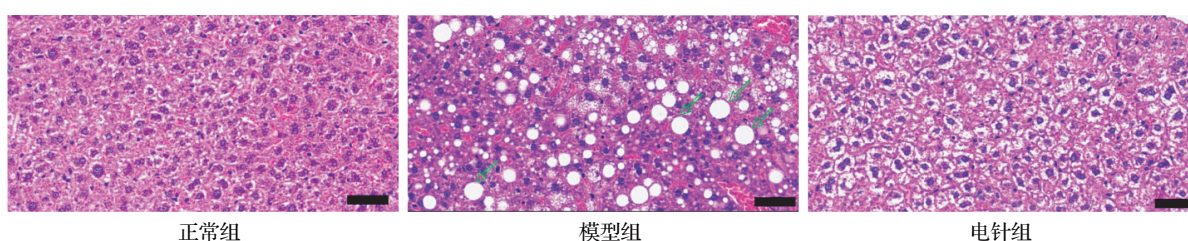
与正常组比较,模型组小鼠肝脏组织LC3-II、Atg5、Atg7的mRNA和蛋白表达减少($P<0.01$),p62的mRNA和蛋白表达增加($P<0.01$);与模型组比较,电针组小鼠肝脏组织LC3-II、Atg5、Atg7的



注:红色箭头示炎性细胞浸润,标尺=100 μm 。与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{△△} $P<0.01$ 。

图6 各组小鼠肠系膜白色脂肪组织形态学及脂肪细胞面积比较(HE染色, $\bar{x}\pm s$, 8只鼠/组)

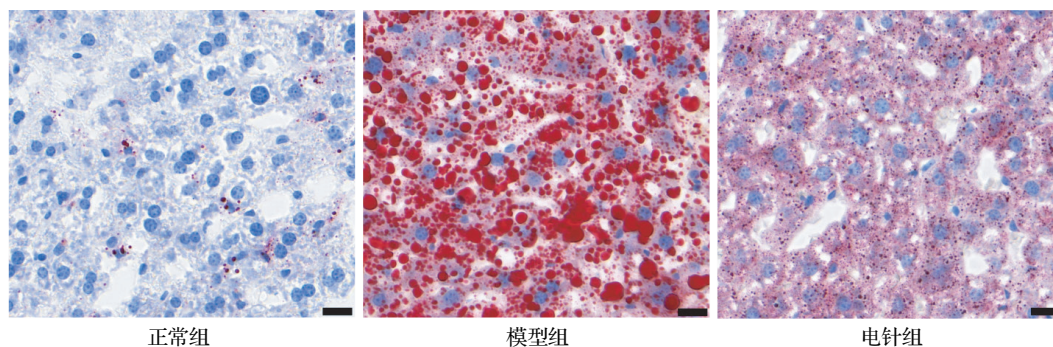
Fig. 6 Comparison of mesenteric white adipose tissue morphology and adipocyte size of mice in the 3 groups (HE staining, $\bar{x}\pm s$, 8 mice/group)



注:绿色箭头示脂滴空泡,标尺=50 μm 。

图7 各组小鼠肝脏组织形态学比较(HE染色)

Fig. 7 Comparison of liver tissue morphology of mice in the 3 groups (HE staining)



注:标尺=20 μm 。

图8 各组小鼠肝脏组织脂质沉积情况比较(油红O染色)

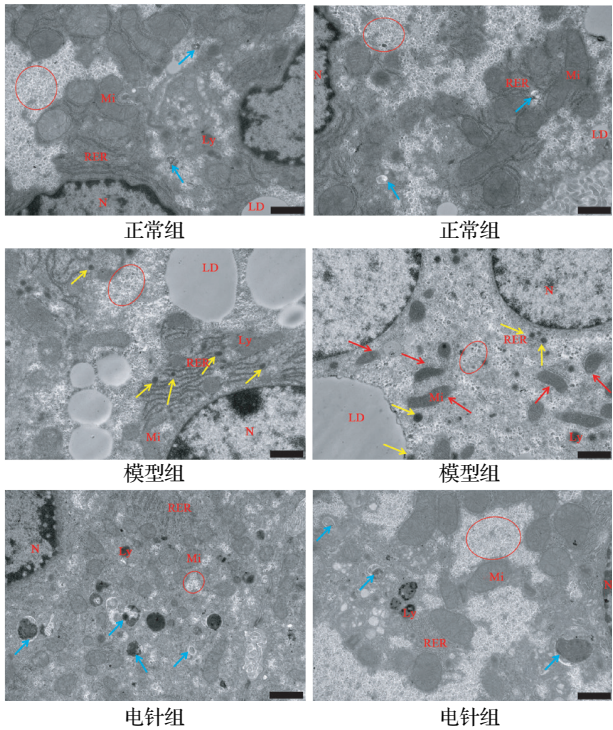
Fig. 8 Comparison of the lipid deposition in liver tissue of mice in the 3 groups (Oil Red O staining)

mRNA 和蛋白表达增加($P<0.01$), p62 的 mRNA 和蛋白表达减少($P<0.01$)。见图 11。

3 讨论

中医认为肥胖的主要病理因素为痰湿,常有“肥人多痰”“肥甘生痰”之说。《张聿青医案》记载:“第体丰者多湿多痰”,吴本立《女科切要》^[18]亦提到:“肥白妇人,经闭而不通者,必是痰湿与脂膜壅塞之故也。”“痰,病液”“湿,幽湿也。从水,一所以覆也。覆土而有水,故湿也。”痰湿为体内水液代谢异常产物。《黄帝内经灵枢集注》^[19]云:“中焦之气,蒸津液,

化其精微……润泽皮肤……溢于外则皮肉膏肥,余于内则膏肓丰满……是以膏肥之人,其肉淖而皮纵缓,故能纵腹垂腴,外内之相应也。”可见肥胖虽由体内痰湿聚集而致,但究其根本则在脾胃,脾胃受损,体内水液代谢异常则酿生痰湿,而发为肥胖。故针灸治疗肥胖当立其根本,以健运脾胃,祛湿化痰为准则。《灵枢·海论》云:“胃者,水谷之海,其输在气街,下至三里。”足三里为足阳明之合穴,胃之下合穴,《灵枢·邪气脏腑病形》曰“合治内腑”,《素问·咳论》曰“治腑者,治其合”,足三里可与“脾气”“胃气”相通,能调理脾胃功能,电针足三里可激发



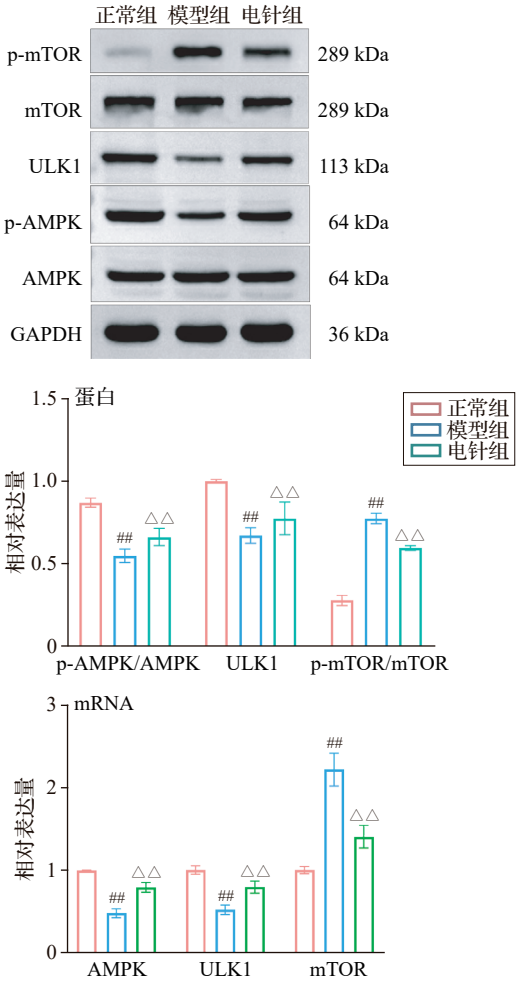
注: N 示细胞核, Mi 示线粒体, RER 示粗面内质网, LD 示脂滴, Ly 示溶酶体, 红色圆圈示糖原颗粒, 蓝色箭头示自噬, 黄色箭头示溶酶体堆积, 红色箭头示线粒体固缩, 标尺=1 μ m。

图 9 各组小鼠肝脏组织超微结构比较(透射电镜)

Fig. 9 Comparison of liver ultrastructure of mice in the 3 groups (transmission electron microscopy)

胃气,健运脾胃,脾胃功能得以恢复,体内水湿津液代谢则以恢复正常^[20];天枢为大肠募穴,足少阴、冲脉之会,可通中焦,司升降之功,“承太乙、滑肉门下传的风之余气及气冲、外陵上承的水湿之气”,具有健脾除湿化痰之功效^[21]。“天枢之上,天气主之;天枢之下,地气主之”。天枢可调畅天地上下之气机,气行而通水道,气旺而食滞消,针刺天枢可通畅气机,调节体内水液运行,体内无凝滞之津液则痰湿可消^[22]。电针“足三里”“天枢”可健运脾胃,祛湿化痰,显著减轻肥胖小鼠体质量,降低腹部脂肪含量,改善血脂水平,明确具有降脂化浊效应^[13,23]。本研究进一步明确了电针“足三里”“天枢”可降低肥胖小鼠的血糖水平,降低 AUC 值,改善胰岛素抵抗,改善肥胖小鼠的糖代谢水平。通过进一步对肝脏组织的病理学和脂质沉积进行观察,证明电针可有效减轻肥胖小鼠肝脏的脂质沉积,明确了电针的降脂功效。

自噬参与细胞的合成与代谢,对体内的脂质代谢平衡起着重要作用。研究^[24-25]显示,电针“天枢”“足三里”等穴可激活肥胖大鼠白色脂肪组织中

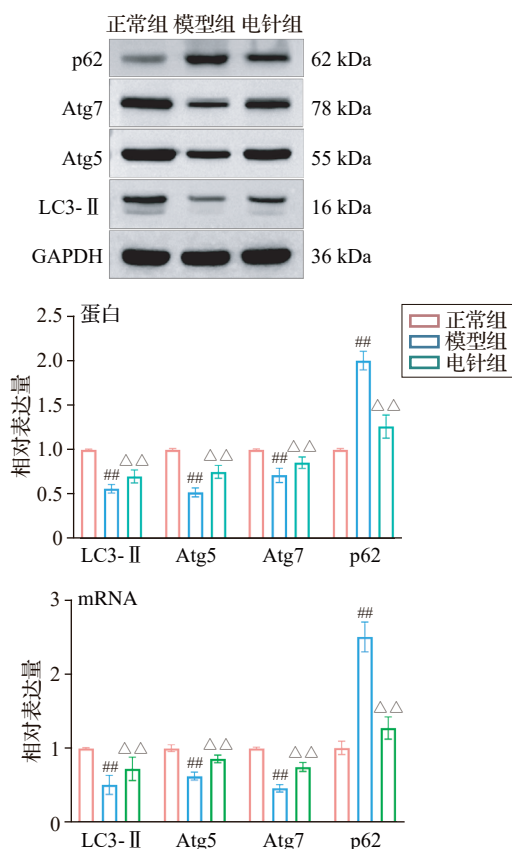


注: AMPK 为腺苷酸活化蛋白激酶, p-AMPK 为磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶, mTOR 为哺乳动物雷帕霉素靶蛋白, p-mTOR 为磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白, ULK1 为 unc-51 样自噬激活激酶 1。与正常组比较, # $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$ 。

图 10 各组小鼠肝脏组织 AMPK、mTOR、ULK1 的蛋白及 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$, 8 只鼠/组)

Fig. 10 Comparison of protein and mRNA expressions of AMPK, mTOR and ULK1 in liver tissue of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 8 mice/group)

mTOR/P70S6K 信号通路,调节白色脂肪组织中自噬相关因子如细胞中 B 淋巴细胞瘤基因 2 同源结构域蛋白 1 (Bcl-2 homologous domain-containing protein 1, Beclin-1)、微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule - associated protein 1 light chain 3, LC3) 和 p62 的表达,抑制白色脂肪组织的过度自噬,达到减肥的功效。严江天等^[26]研究表明“标本配穴”电针法可下调脂肪组织中 LC3-II/LC3-I 比值和 Beclin-1 蛋白的表达,上调 p62 蛋白的表达,降低体内炎症因子水平,达到改善肥胖的作用。上述研究均聚焦于脂肪组织,观察电针减肥的局部作用机



注:LC3-II 为微管相关蛋白 1 轻链 3-II 型,Atg5 为自噬相关基因 5,Atg7 为自噬相关基因 7,p62 为选择性自噬衔接蛋白。

与正常组比较,## $P < 0.01$;与模型组比较,△△ $P < 0.01$ 。

图 11 各组小鼠肝脏组织 LC3-II、Atg5、Atg7、p62 的蛋白及 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, 8 只鼠/组)

Fig. 11 Comparison of protein and mRNA expressions of LC3-II, Atg5, Atg7 and p62 in liver tissue of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 8 mice/group)

制。但肥胖状态下肝脏代谢能力下降,肝脏内脂肪大量蓄积,进一步加剧代谢危险性。肝脏内大量的脂肪蓄积导致肝脏自噬功能受损,进而影响自噬降解脂质的作用,长此以往,则形成恶性循环^[27]。针灸通过调理体质、脏腑功能来防治肥胖症,恢复健康代谢。研究显示,电针可通过改善肝脏胰岛素抵抗、减少肝脏脂肪蓄积,减轻炎症反应达到防治肥胖的作用^[28-29]。基于此,本研究立足能量代谢器官肝脏,探讨电针是否可以通过调控肝脏自噬,发挥减肥的功效,进一步探索电针减肥的作用机制。

LC3 在自噬过程中扮演着重要角色,LC3 的脂化是自噬体形成的关键步骤,标志着自噬体的形成与成熟^[30],LC3 在自噬相关基因 (Autophagy-related gene, Atg) 4 的剪切作用下裂解形成 LC3-I,再通过 Atg7 和 Atg3 与磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PE) 偶联,转化为 LC3-II,最

终形成自噬小体^[31]。p62 作为经典的自噬底物,起到自噬接头的作用^[32],在自噬体形成过程中,p62 可作为连接 LC3 和聚泛素化蛋白之间的桥梁,被选择性地包裹进自噬体,被自噬溶酶体中的蛋白水解酶降解,p62 蛋白的表达量与自噬活性呈现负相关。自噬体的形成是由 Atg 驱动的,Atg5 和 Atg7 在自噬中发挥重要作用^[33],Atg5 是自噬泡膜延伸的关键蛋白,可与 Atg12 和 Atg16 形成复合物,激活 Atg3 酶活性,进而促进 LC3 脂化,促进自噬体的形成^[34]。通过体内体外实验表明,抑制 ATG 的表达可降低自噬水平,而 Atg5 条件性敲除小鼠的小脑中 p62 聚集增加,自噬体形成受损^[35-36]。Atg7 作为 E1 类泛素化酶,在激活 Atg12 后可促进 Atg5-Atg12-Atg16L 复合物的形成,进一步促进 PE 与 LC3-I 的结合并形成 LC3-II,进而促进 LC3-II 与自噬泡膜的结合^[37]。使用他莫昔芬诱导的敲除小鼠模型消融成年小鼠成熟脂肪细胞中的 Atg7,使 Atg7 转录水平显著降低,中断了 LC3-I 向 LC3-II 的转化,自噬过程被破坏^[38]。本研究结果显示,较正常组,模型组小鼠肝脏组织中 LC3-II、Atg5 和 Atg7 表达降低,p62 表达增加,通过透射电镜观察各组小鼠肝脏自噬小体情况观察到,模型组肥胖小鼠较正常组小鼠肝细胞内自噬小体减少,脂滴数量增加,表明模型组小鼠肝脏组织中的自噬受到抑制。经电针干预后,与模型组比较,电针组小鼠肝脏组织中的 LC3-II、Atg5 和 Atg7 表达上调,p62 表达下调,电针组小鼠较模型组小鼠肝细胞内自噬空泡增加,可见少量的自噬小体和自噬溶酶体,脂滴数量减少,表明电针组小鼠肝脏组织自噬得以恢复,表明电针可促进肥胖小鼠肝脏自噬。

AMPK 是细胞中的主要能量传感器和自噬激活剂^[39]。激活的 AMPK 磷酸化 ULK1,启动自噬发生。AMPK 通过磷酸化 mTOR 调节相关蛋白 (regulatory-associated protein of mTOR, RPTOR) 直接抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1),同时激活结节性硬化复合物 2 (tuberous sclerosis complex 2, TSC2) 间接阻滞 mTORC1 信号,双重下调 mTORC1 活性,进而解除对自噬的抑制^[40]。mTOR 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,参与多种代谢和生长促进信号的整合。激活后的 mTOR 通过调节蛋白质合成和其他生物合成过程促进细胞生长和存活,限制自噬介导的分解代谢^[41]。mTOR 是自噬的重要负调节因子。在自噬

诱导期, mTORC1通过磷酸化关键组分ULK1和Atg13来抑制ULK1复合体的活性,从而抑制自噬的启动^[42]。自噬启动的标志是自噬小体的形成,其起始过程主要依赖于ULK1复合物。ULK1是一种具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性的分子,其活性受mTORC1的负调控,并受AMPK的正调控^[43]。研究显示^[44],高脂饮食诱导的肥胖小鼠肝细胞自噬活性降低,并加重肝脏的脂肪变性。本研究表明模型组小鼠p-AMPK/AMPK、ULK1表达较正常组减少,p-mTOR/mTOR表达上调,电针组小鼠p-AMPK/AMPK、ULK1表达上调,p-mTOR/mTOR表达下降。表明电针可以调控AMPK/mTOR/ULK1信号通路。

综上所述,电针可有效改善肥胖小鼠的血脂血糖代谢水平,可通过调控肝脏AMPK/mTOR/ULK1信号通路,上调自噬标志物LC3-II、自噬基因Atg5、Atg7的表达,抑制p62的表达,促进肥胖小鼠肝脏自噬水平,达到降脂减重的作用。但本研究未进一步采用AMPK特异性抑制剂深入干预,未能进一步验证该信号通路的靶向调控作用。今后将进一步开展实验,观察抑制AMPK/mTOR/ULK1通路后,电针对自噬的调控是否发生了改变,从而明确该信号通路在电针调控肝脏自噬作用中的深入机制。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] World Obesity Federation. World obesity atlas 2025 [R/OL]. London: World Obesity Federation, 2025 [2025-05-12]. <https://data.worldobesity.org/publications/> cat=23.
- [2] GUERRA S, GASTALDELLI A. The role of the liver in the modulation of glucose and insulin in non alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2020, 55: 165-174.
- [3] CHAO H W, CHAO S W, LIN H, et al. Homeostasis of glucose and lipid in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *IJMS*, 2019, 20(2): 298.
- [4] ROY N, ALENCASTRO F, ROSEMAN B A, et al. Dysregulation of lipid and glucose homeostasis in hepatocyte-specific SLC25A34 knockout mice[J]. *Am J Pathol*, 2022, 192(9): 1259-1281.
- [5] RYTER S W, BHATIA D, CHOI M E. Autophagy: a lysosome-dependent process with implications in cellular redox homeostasis and human disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 30(1): 138-159.
- [6] WEISKIRCHEN R, TACKE F. Relevance of autophagy in parenchymal and non-parenchymal liver cells for health and disease[J]. *Cells*, 2019, 8(1): 16.
- [7] SINGH R, KAUSHIK S, WANG Y J, et al. Autophagy regulates lipid metabolism[J]. *Nature*, 2009, 458(7242): 1131-1135.
- [8] LIN J R, HUANG C H, ZHAO J Y, et al. The novel TFEB agonist desloratadine ameliorates hepatic steatosis by activating the autophagy-lysosome pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1449178.
- [9] LIU J L, LI Y, ZHOU X Y, et al. CaMKIV limits metabolic damage through induction of hepatic autophagy by CREB in obese mice[J]. *J Endocrinol*, 2020, 244(2): 353-367.
- [10] KIM J, KUNDU M, VIOLETTE B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(2): 132-141.
- [11] LI Y, CHENG Y J, ZHOU Y, et al. High fat diet-induced obesity leads to depressive and anxiety-like behaviors in mice via AMPK/mTOR-mediated autophagy [J]. *Exp Neurol*, 2022, 348: 113949.
- [12] HAN D, KIM D, KIM H, et al. Methylsulfonylmethane ameliorates metabolic-associated fatty liver disease by restoring autophagy flux via AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1302227.
- [13] 张英溶, 张艳洁, 黄伟, 等. 电针调控下丘脑LKB1/AMPK信号通路对肥胖小鼠白色脂肪棕色化的影响[J]. *针刺研究*, 2025, 50(4): 393-401.
- ZHANG Y R, ZHANG Y J, HUANG W, et al. Electroacupuncture intervention promotes browning of white adipose tissue by regulating LKB1/AMPK pathway in obese mice (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(4): 393-401.
- [14] 张艳洁, 黄伟, 李佳, 等. 电针对肥胖大鼠白色脂肪组织PGC-1 α /Irisin/UCP1信号通路的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(6): 3471-3474.
- ZHANG Y J, HUANG W, LI J, et al. Effects of electroacupuncture on PGC-1 α /Irisin/UCP1 signaling pathway in white adipose tissue of obese rats (in Chinese)[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2022, 37(6): 3471-3474.
- [15] 关于发布《关于善待实验动物的指导性意见》的通知[J]. 畜牧兽医科技信息, 2007(4): 35-36.
- Notice on issuing the guiding opinions on treating experimental animals well (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2007(4): 35-36.
- [16] 针刺研究编辑部.《针刺研究》实验动物福利伦理审查清单[J]. *针刺研究*, 2024, 49(2): 220.
- Editorial Board of *Acupuncture Research*. Review list of welfare ethics of experimental animals in *Acupuncture Research* (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49

- (2): 220.
- [17] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第3部分: 小鼠[J]. 针刺研究, 2021, 46(5): 445-446.
China Association of Acupuncture-Moxibustion. Nomenclature and location of acupoints commonly used in experimental animals. Part 3: mice (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2021, 46(5): 445-446.
- [18] 喻松仁, 王萍, 舒晴, 等. 肥胖痰湿衍变规律探析[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(4): 1483-1485.
YU S R, WANG P, SHU Q, et al. Analysis on the evolution rules of obesity phlegm dampness (in Chinese) [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2018, 33(4): 1483-1485.
- [19] 付广威, 王浩田, 于森, 等. 肥胖症从痰湿论治质疑[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(7): 1069-1071, 1077.
FU G W, WANG H T, YU M, et al. Query on treatment of obesity from phlegm dampness (in Chinese) [J]. Journal of Basic Chinese Medicine, 2021, 27(7): 1069-1071, 1077.
- [20] 代辉, 陈静, 马磊, 等. 足三里穴的临床应用探析[J]. 贵州中医药大学学报, 2024, 46(6): 17-20.
DAI H, CHEN J, MA L, et al. Clinical application of Zusanli point (in Chinese) [J]. Journal of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, 2024, 46(6): 17-20.
- [21] 陈伟, 王成, 余曙光, 等. 天枢穴主治病症及配伍规律探析: 基于随机临床对照试验[J]. 按摩与康复医学, 2023, 14(8): 97-102.
CHEN W, WANG C, YU S G, et al. The main indications and compatibility rules of Tianshu (ST25) based on randomized controlled trials (in Chinese) [J]. Chinese Manipulation and Rehabilitation Medicine, 2023, 14(8): 97-102.
- [22] 杨才雅, 黄静, 李安洪. 《针灸大成》中天枢穴的临床应用浅析[J]. 按摩与康复医学, 2023, 14(3): 90-92, 96.
YANG C Y, HUANG J, LI A H. Brief analysis of clinical use of Tianshu (ST25) recorded in Zhenjiu Dacheng (in Chinese) [J]. Chinese Manipulation and Rehabilitation Medicine, 2023, 14(3): 90-92, 96.
- [23] 高璐琪, 司原成, 康朝霞, 等. 基于TLR5-肠道菌群途径探讨电针对营养型肥胖小鼠的作用机制[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2024, 53(3): 321-327.
GAO L Q, SI Y C, KANG C/Z X, et al. Effect of electroacupuncture on nutritional obese mice based on TLR5-gut microbiota pathway (in Chinese) [J]. Acta Medicinæ Universitatis Scientiæ et Technologiæ Huazhong, 2024, 53(3): 321-327.
- [24] 姚俊鹏, 张林, 周思远, 等. 电针对高脂饮食诱导的肥胖大鼠白色脂肪组织中自噬相关蛋白表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(12): 7060-7065.
YAO J P, ZHANG L, ZHOU S Y, et al. Effects of electroacupuncture on autophagy-related protein in white adipose tissue of obese rats induced by high-fat diet (in Chinese) [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2021, 36(12): 7060-7065.
- [25] 姚俊鹏, 周思远, 鄢香芸, 等. 基于mTOR/P70S6K信号通路探讨电针对肥胖大鼠脂肪组织自噬的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(5): 2633-2638.
YAO J P, ZHOU S Y, YAN X Y, et al. Effects of electroacupuncture on autophagy in the adipose tissue of rats based on mTOR/P70S6K signaling pathway (in Chinese) [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2022, 37(5): 2633-2638.
- [26] 严江天, 曾林, 唐倩, 等. “标本配穴”电针调控脂肪组织自噬改善肥胖大鼠炎症[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(3): 744-747.
YAN J T, ZENG L, TANG Q, et al. Electroacupuncture of “Biaoben acupoints” improve inflammation in obese rats by regulating autophagy in adipose tissue (in Chinese) [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2023, 34(3): 744-747.
- [27] 张博雅. 运动、饮食干预对肥胖小鼠肝脏细胞自噬的影响[J]. 辽宁体育科技, 2021, 43(5): 62-66.
ZHANG B Y. Effects of exercise and diet intervention on autophagy of liver cells in obese mice (in Chinese) [J]. Liaoning Sport Science and Technology, 2021, 43(5): 62-66.
- [28] 董滢, 李瑞, 郭卫星, 等. 电针对糖尿病肥胖大鼠肝脏Akt/FoxO1信号通路的影响[J]. 中国针灸, 2023, 43(6): 679-683, 708.
DONG Y, LI R, GUO W X, et al. Effect of electroacupuncture on liver Akt/FoxO1 signaling pathway in rats with diabetic fatty (in Chinese) [J]. Chinese Acupuncture & Moxibustion, 2023, 43(6): 679-683, 708.
- [29] 刘霞, 李祥, 郑近园, 等. 电针对单纯性肥胖症大鼠肠道菌群-短链脂肪酸代谢轴的影响[J]. 针刺研究, 2024, 49(8): 805-813.
LIU X, LI X, ZHENG J Y, et al. Effect of electroacupuncture on the intestinal flora-short chain fatty acid metabolism axis in simple obesity rats (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2024, 49(8): 805-813.
- [30] DING M Y, PENG Y R, LI F, et al. Andrographolide derivative as antagonist of vitamin D receptor to induce lipidation of microtubule associate protein 1 light chain 3 (LC3) [J]. Bioorg Med Chem, 2021, 51: 116505.
- [31] 曾祥意, 潘杰. 自噬调控白色脂肪细胞棕色化的研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2020, 40(6): 63-73.
ZENG X Y, PAN J. Progress on autophagy regulation of browning of white adipose cells (in Chinese) [J]. China Biotechnology, 2020, 40(6): 63-73.
- [32] LIN X L, LI S, ZHAO Y, et al. Interaction domains of p62:

- a bridge between p62 and selective autophagy[J]. DNA Cell Biol, 2013, 32(5): 220-227.
- [33] NISHIMURA T, TOOZE S A. Emerging roles of ATG proteins and membrane lipids in autophagosome formation[J]. Cell Discov, 2020, 6: 32.
- [34] LI W, ZHANG L N. Regulation of ATG and autophagy initiation[M]//Autophagy: Biology and Diseases. Singapore: Springer, 2019: 41-65.
- [35] TUTAS J, TOLVE M, ÖZER-YILDIZ E, et al. Autophagy regulator ATG5 preserves cerebellar function by safeguarding its glycolytic activity[J]. Nat Metab, 2025, 7(2): 297-320.
- [36] TSUJIMOTO R, YURUBE T, TAKEOKA Y, et al. Involvement of autophagy in the maintenance of rat intervertebral disc homeostasis: an *in-vitro* and *in-vivo* RNA interference study of Atg5[J]. Osteoarthr Cartil, 2022, 30(3): 481-493.
- [37] 李建, 曹炎, 陈迎, 等. 自噬相关蛋白 ATG5 和 ATG7 在神经干细胞体外扩增中的作用[J]. 军事医学, 2022, 46(11): 848-854.
- LI J, CAO Y, CHEN Y, et al. Roles of autophagy related proteins ATG5 and ATG7 in the expansion of neural stem cells *in vitro* (in Chinese) [J]. Military Medical Sciences, 2022, 46(11): 848-854.
- [38] RICHTER F C, FRIEDRICH M, KAMPSCHULTE N, et al. Adipocyte autophagy limits gut inflammation by controlling oxylipin and IL-10[J]. EMBO J, 2023, 42(6): e112202.
- [39] BRESSAN C, SAGHATELYAN A. AMPK-induced autophagy as a key regulator of cell migration[J]. Autophagy, 2021, 17(3): 828-829.
- [40] FENG Y Y, CHEN Y, WU X Y, et al. Interplay of energy metabolism and autophagy [J]. Autophagy, 2024, 20(1): 4-14.
- [41] CAYO A, SEGOVIA R, VENTURINI W, et al. mTOR activity and autophagy in senescent cells, a complex partnership[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(15): 8149.
- [42] CHEN R J, YANG C H, YANG F, et al. Targeting the mTOR-autophagy axis: unveiling therapeutic potentials in osteoporosis[J]. Biomolecules, 2024, 14(11): 1452.
- [43] REN Q N, SUN Q M, FU J F. Dysfunction of autophagy in high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease [J]. Autophagy, 2024, 20(2): 221-241.
- [44] SUN C B, ZHANG J, HOU J, et al. Induction of autophagy via the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway by Pueraria flavonoids improves non-alcoholic fatty liver disease in obese mice[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 157: 114005.

收稿日期:2025-08-25 修回日期:2025-10-30
网络首发:2025-12-25 编辑:李天娇