

[17] 杨 云,王佑民.原发性甲状腺功能减退症患者血脂谱变化的特点[J].安徽医科大学学报,2017,52(9):1361-1365.

[18] 吴 雯,梁凯伦,陈 波,等.桑叶提取物对食源性肥胖大鼠的减肥作用及机制研究[J].中国中药杂志,2017,42(9):1757-1761.

[19] Zhang S, Wang L, Zan L S. Investigation into the underlying molecular mechanisms of white adipose tissue through comparative transcriptome analysis of multiple tissues[J].*Mol Med Rep*, 2019, 19(2): 959-966.

[20] Wendel A A, Lewin T M, Coleman R A. Glycerol-3-phosphate

acyltransferases: rate limiting enzymes of triacylglycerol biosynthesis[J].*Biochim Biophys Acta*, 2009, 1791(6): 501-506.

[21] Cao J, Perez S, Goodwin B, et al. Mice deleted for GPAT3 have reduced GPAT activity in white adipose tissue and altered energy and cholesterol homeostasis in diet-induced obesity[J].*Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014, 306(10): E1176-E1187.

[22] Pagac M, Cooper D, Qi Y F, et al. SEIPIN regulates lipid droplet expansion and adipocyte development by modulating the activity of glycerol-3-phosphate acyltransferase[J].*Cell Rep*, 2016, 17(6): 1546-1559.

六味地黄丸对阿尔茨海默病秀丽隐杆线虫模型的神经保护作用

雷 霞^{1,2}, 王加朋², 佟玉良³, 张金凤², 苏 婷³, 于 浩³, 金美玲², 徐红丹^{4*}, 张 宁^{2*}

(1. 南京中医药大学无锡附属医院, 江苏省中医退行性骨关节病临床医学创新中心, 江苏 无锡 214071; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 4. 无锡卫生高等职业技术学校, 江苏 无锡 214028)

摘要: **目的** 从线粒体功能损伤角度探讨六味地黄丸提取物对阿尔茨海默病 (AD) 秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 模型的神经保护作用。**方法** 以 *C. elegans* 为模式生物, 实验分为空白组 (CL2122 型)、模型组 (CL2355 型)、阳性药组 (CL2355 型, 50 mmol/L 二甲双胍) 和六味地黄丸低、中、高剂量组 (CL2355 型, 0.5、1.0、2.0 mg/mL)。通过行为学方法观察线虫的学习记忆能力, Western blot 法检测线虫体内磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶 (p-AMPK)、沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 蛋白表达, RT-qPCR 法检测 *paqr-1*、*aak-1*、*sir-2.1* mRNA 表达。**结果** 六味地黄丸提取物提高了模型组线虫的化学趋向性 ($P<0.01$), 并显著改善其学习记忆能力。与空白组比较, 模型组 p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达降低 ($P<0.01$), *aak-1*、*sir-2.1*、*paqr-1* mRNA 表达降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 阳性药组和六味地黄丸中、高剂量组 p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达升高 ($P<0.01$), *aak-1*、*sir-2.1*、*paqr-1* mRNA 表达升高 ($P<0.01$)。**结论** 六味地黄丸通过增强 AD 模型线虫脂联素受体 1 (AdipoR1) 表达, 激活 AMPK/SIRT1 信号通路改善中枢神经线粒体功能, 修复神经元损伤, 从而发挥对 AD 模型线虫的神经保护作用。

关键词: 六味地黄丸; 阿尔茨海默病; 秀丽隐杆线虫; 线粒体损伤; AMPK/SIRT1 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)02-0615-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.044

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种与年龄相关的中枢神经系统疾病, 目前 AD 患者已超过 3 500 万人^[1]。有研究表明, 在受 AD 影响的海马神经元中, 常出现

线粒体功能障碍和生物能量缺陷, 而这些异常在出现 AD 症状之前就已经存在。线粒体功能障碍导致细胞能量缺陷和氧化损伤引发 A β 沉积, 进一步导致认知缺陷^[2]。因此,

收稿日期: 2023-04-07

基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (LH2020H097); 黑龙江省中医药科研项目 (ZHY202088); 无锡市卫生健康委中青年拔尖人才资助计划 (BJ2023072)

作者简介: 雷 霞 (1982—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事滋阴清热中药抗阿尔茨海默病的机制研究。Tel: 18045454111, E-mail: leixia2006@163.com

* 通信作者: 徐红丹 (1984—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事滋阴清热中药抗更年期抑郁症的机制研究。Tel: 15961862369, E-mail: xuhd1984@126.com

张 宁 (1974—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及体内代谢研究。Tel: (0454) 6050350, E-mail: zhangning0454@163.com

保护线粒体功能是治疗 AD 的重要策略。

六味地黄丸源自《小儿药证直诀》，具有滋阴补肾之功效。有研究表明，六味地黄丸在治疗 AD 方面具有显著的疗效^[3-5]。实验研究也发现，六味地黄丸对氢化可的松和侧脑室注射 Aβ₂₅₋₃₅ 构建的老年痴呆症状有改善作用^[6]。课题组前期已经证明六味地黄丸具有神经保护作用，且可能与调节脑能量代谢密切相关^[7]。秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 不仅具有体积小、生命周期短、易于培养和观察等特点，而且其组成以神经元细胞为主，几乎所有涉及哺乳动物神经元功能的基因家族都存在于线虫中，这使得线虫更易于用作探究神经元水平的能量代谢情况^[8]。因此，本研究以 *C. elegans* 为实验对象，探索六味地黄丸对神经元线粒体损伤的保护作用机制，从能量代谢衰竭学说角度寻找安全可靠的抗 AD 中药。

1 材料

1.1 实验动物 秀丽隐杆线虫，CL2355（转染人源 Aβ 基因）、CL2122（野生型）品系线虫株均购自明尼苏达大学秀丽隐杆线虫遗传中心（CGC）。

1.2 试剂与药物 六味地黄丸浓缩丸、盐酸二甲双胍片（北京同仁堂药店哈尔滨店）。Phospho-AMPKα（Thr172）抗体（上海碧云天生物技术有限公司，批号 AA393）；Anti-SIRT1、Anti-β-actin 抗体（武汉博士德生物工程有限公司，批号 PB0173、BM3873）；TRIzol 总 RNA 提取试剂（美国赛默飞世尔科技公司，批号 223306）；FastKing cDNA 第一链合成试剂盒（去基因组）[天根生化科技（北京）有限公司，批号 U8819]。

1.3 仪器 电泳仪、半干转膜仪（美国伯乐公司，型号 PowerPac™ HC、PowerPac™ Basic）；实时荧光定量 PCR 仪（美国安捷伦科技有限公司，型号 Mx3000P）；生化培养箱（上海智城分析仪器制造有限公司，型号 ZSD-1160）；荧光倒置显微镜、体式显微镜（日本奥林巴斯公司，型号 IX71、SZ-51）。

2 方法

2.1 实验分组 实验分为空白组（CL2122 型）、模型组（CL2355 型）、阳性药组（CL2355 型，50 mmol/L 二甲双胍）和六味地黄丸低、中、高剂量组（CL2355 型，0.5、1.0、2.0 mg/mL）。

2.2 溶液配制

2.2.1 六味地黄丸提取物的制备 取六味地黄丸浓缩丸，研细，取 96 g 置于烧杯中并加入 500 mL 80% 乙醇，搅拌，超声提取 1 h，回流萃取 2 次，每次 30 min，将浓缩液冻干，得到六味地黄丸提取物冻干粉。研究表明 80% 六味地黄丸乙醇提取物中含有没食子酸、5-羟甲基糠醛、莫诺苷、马钱苷、芍药苷、山茱萸新苷、丹皮酚等主要有效成分。考虑尽量除杂和尽可能多地保留有效成分，本实验采用 80% 乙醇对六味地黄丸进行萃取。

2.2.2 六味地黄丸含药培养基的配制 精密称取六味地黄丸提取物 100、200、400 mg，分别加至 200 mL 灭菌的

50 ℃ 线虫生长培养基（NGM）中，摇匀，使终质量浓度分别为 0.5、1、2 mg/mL。取上述药液 100 mL 于灭菌的培养皿中，冷却凝固为含药培养基；另外 100 mL 加入大肠杆菌，制备含药菌液。取 20 μL 含药菌液滴在培养基中心位置，置于 37 ℃ 恒温下培养 12~14 h，15 ℃ 下贮存。本实验直接将六味地黄丸冻干粉加入配制好的约 50 ℃ 的 NGM 培养基中。NGM 培养基配制时已加入无水乙醇助溶，故六味地黄丸粉末可完全溶于培养基中。

2.2.3 二甲双胍含药培养基的配制 取盐酸二甲双胍片，碾碎，精密称取 1.656 3 g，加到 200 mL 灭菌的 50 ℃ NGM 培养基中，按照“2.2.2”项下六味地黄丸含药培养基、含药菌液的制备步骤进行配制。二甲双胍溶于水，其粉末亦可在 NGM 培养基中溶解，故无需考虑溶酶介质的影响。

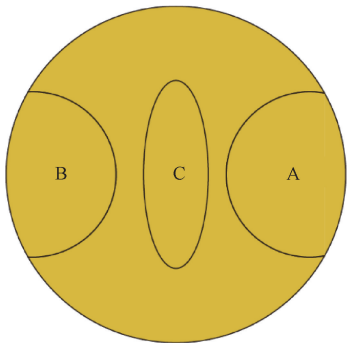
2.2.4 OP50 细菌的培养 在细菌培养板上挑取大肠杆菌 OP50 单菌落至 5 mL 的 LB 液体培养基中，37 ℃ 培养过夜。细菌的分离纯化步骤为取 200 μL 菌液于 LB 固体培养基上，用灭菌的涂布器涂布均匀，37 ℃ 培养过夜。培养 OP50 作为线虫的食物，待平板上长出单菌落后，用灭菌的接种环挑取单菌落至 200 mL LB 液体培养基中，37 ℃ 摇床振荡培养 24 h。

2.2.5 NGM 配制 取蛋白胨（peptone）2 g、琼脂 16 g、NaCl 2.4 g，置于洁净 1 000 mL 玻璃三角瓶，加入 1 mol/L 磷酸缓冲液 20 mL，蒸馏水定容至 800 mL（此混合物为初始培养基），120 ℃ 高压蒸汽灭菌 30 min，置于 55 ℃ 水浴锅中冷却，依次加入 5 mg/mL 胆固醇（无水乙醇溶解，不灭菌）0.8 mL，高压灭菌的 1 mol/L MgSO₄、1 mol/L CaCl₂ 各 0.8 mL，摇匀即得到完全培养基。

2.2.6 含菌 NGM 培养基配制 取 200 μL OP50 菌液于 NGM 平板上，用灭菌的涂布器轻轻地涂布均匀，涂布时使菌苔距离平板 2 cm 左右，涂布完毕后，室温放置菌液干透，转至 20 ℃ 培养箱中倒置培养过夜，使培养基上长出一层薄薄的菌苔。

2.3 行为学实验 野生型线虫对 NaCl 具有趋向性，在饥饿和 NaCl 这 2 种条件的刺激下，线虫会避开 NaCl。NaCl 趋向性分析实验装置是含有 NGM 培养基的直径 6 cm 的普通培养皿，也称为趋向性检测皿。每组随机抽取 50 只线虫，用 M9 缓冲液洗净后，将其移至不含食物的新鲜驯化皿或模拟条件驯化皿上，在 20 ℃ 下进行 4 h 的驯化，然后将其洗脱移至检测皿中。取含 100 mmol/L NaCl 的圆柱状琼脂块，移至检测皿上 A 点，在培养基上产生连续的 NaCl 梯度。14~24 h 后移走该琼脂块，在 A 点加入 1 μL 0.5 mol/L NaN₃。将检测皿放置在 20 ℃ 条件下，让线虫自行活动 30 min，最终求出趋向指数（CI），公式为 $CI = (N_A - N_B) / (N_{All} - N_C)$ ， N_A 表示 A 区， N_B 表示 B 区， N_C 表示 C 区， N_{All} 表示检测皿中所有线虫数目，线虫化学趋向性检测皿示意图见图 1。实验平行重复 3 次。

2.4 Western blot 法检测线虫体内 p-AMPK、SIRT1 蛋白表达 严格按照蛋白提取试剂盒说明提取线虫蛋白，BCA 法



注：A 区为叠氮化钠+吸引力化学物质，B 区为叠氮化钠，C 区为线虫运动起始点。

图 1 线虫化学趋向性检测皿示意图

检测蛋白浓度。各组蛋白上样量均为 25 μg，进行 SDS-PAGE 凝胶电泳，然后将其转移至 PVDF 膜，加 5% 脱

表 1 引物序列

基因	正向引物	反向引物
<i>paqr-1</i>	5'-TGGGATGTAGTGGTGCATCC-3'	5'-TTCTGGAGTTCGTGTGGCAT-3'
<i>aak-1</i>	5'-GTGCTGCGTCCGTATCAGTA-3'	5'-GCGTCATCAACGCGAACTTT-3'
<i>sir-2.1</i>	5'-TGCAACGAGCCGATTCATGT-3'	5'-GCGTTTTTCATGGGATTTGCT-3'

2.6 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析，进一步比较采用 LSD 和 SNK 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

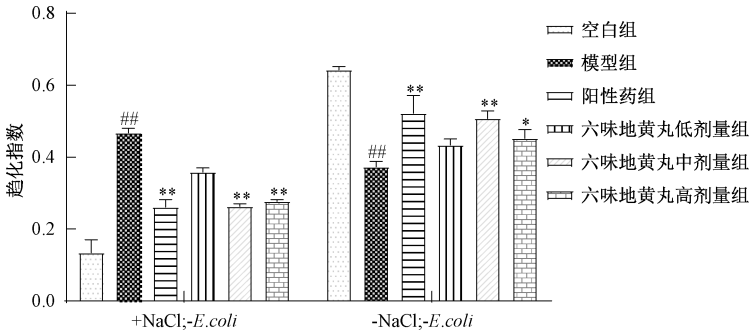
3 结果

3.1 六味地黄丸提取物对 AD 模型线虫化学趋向性的影响 如图 2 所示，在缺乏食物和暴露于 NaCl 的条件下 (+NaCl; -*E. coli*)，与空白组比较，模型组线虫对 NaCl 的趋向性升高 ($P<0.01$)，学习记忆行为受到抑制；与模型组

脂奶粉溶液在室温下封闭 1.5 h，加 SIRT1、p-AMPK、β-actin 抗体 (1 : 1 500)，于 4 ℃ 下孵育过夜，TBST 清洗 3 次，每次 10 min，加二抗 (1 : 5 000) 室温孵育 1.5 h，TBST 清洗 3 次，每次 10 min，滴加发光液，显影、成像，采用凝胶成像系统拍照，分析目的蛋白相对表达。

2.5 RT-qPCR 法检测线虫体内 *paqr-1*、*aak-1*、*sir-2.1* mRNA 表达 取同步化至 L4 期的线虫，M9 缓冲液洗 2 次，TRIzol 法提取总 RNA，然后使用 Fast King RT Kit (With gDNase) 将 RNA 反转录为 cDNA。使用 Super Real Pre Mix Plus (SYBY Green) 实时荧光定量 PCR 试剂盒检测 *paqr-1*、*aak-1*、*sir-2.1* mRNA 表达。引物应用核酸系列保守区内设计，引物长度 20~22 bp，G+C 含量 45%~55%，碱基随机分布，引物利用 NCBI 软件设计，由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成，序列见表 1。

比较，阳性药组和六味地黄丸中、高剂量组线虫 NaCl 的趋向性降低 ($P<0.01$)，联想性学习行为得到修复。而在缺乏食物和 NaCl 的条件下 (-NaCl; -*E. coli*)，与空白组比较，模型组线虫对 NaCl 的趋向性降低 ($P<0.01$)，学习记忆行为受到抑制；与模型组比较，阳性药组和六味地黄丸中、高剂量组线虫对 NaCl 的趋向性升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，学习记忆行为得到修复。



注：与空白组比较，## $P<0.01$ ；与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

图 2 六味地黄丸提取物对 AD 模型线虫化学趋向性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=50$)

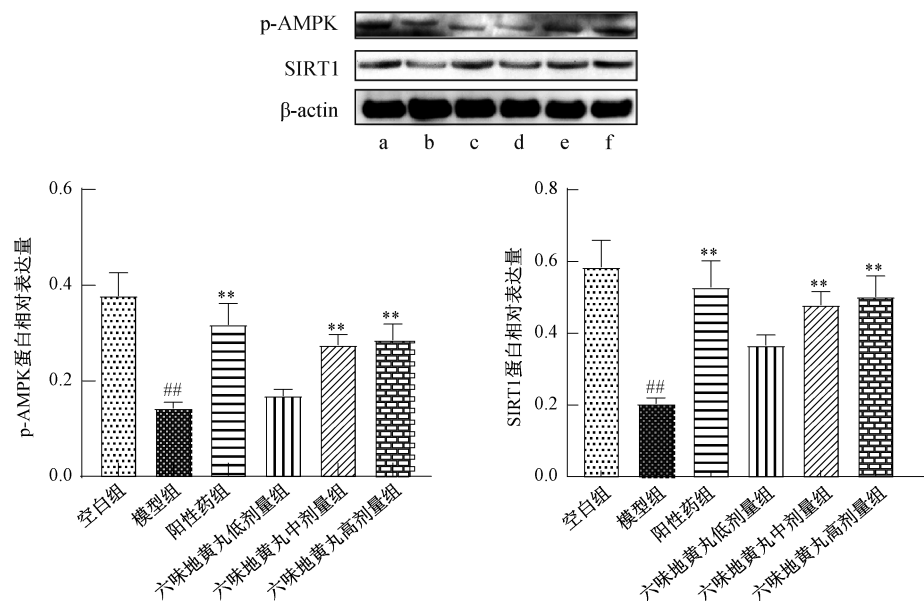
3.2 六味地黄丸提取物对 AD 模型线虫 AMPK、SIRT1 蛋白表达的影响 如图 3 所示，与空白组比较，模型组 p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，阳性药组和六味地黄丸中、高剂量组 p-AMPK 与 SIRT1 蛋白表达升高 ($P<0.01$)。

3.3 六味地黄丸提取物对 AD 模型线虫 *aak-1*、*sir-2.1* 和 *paqr-1* mRNA 表达的影响 如图 4 所示，与空白组比较，模型组 *aak-1*、*sir-2.1*、*paqr-1* mRNA 表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，阳性药组和六味地黄丸中、高剂量组 *aak-1*、*sir-2.1*、*paqr-1* mRNA 表达升高 ($P<0.01$)。

4 讨论

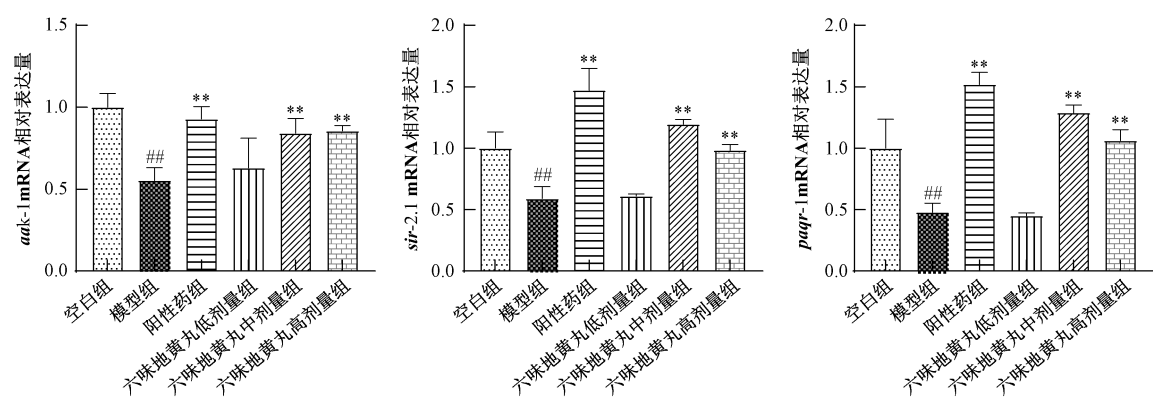
AD 患者常出现记忆减退，本研究以转染人源 Aβ 基因的秀丽隐杆线虫为 AD 模型^[9]，通过化学趋向性实验考察线虫学习记忆能力，发现 AD 模型线虫出现联想学习记忆能力障碍，而六味地黄丸能够改善症状。在明确六味地黄丸能够有效改善记忆障碍的前提下，本实验深入研究其抗 AD 作用机制。

线粒体功能障碍是 AD 发病机制的早期事件，线粒体在延缓衰老和预防神经退行性疾病方面发挥着重要作用^[10]。有研究表明，线粒体功能障碍和能量代谢缺陷是在



注：a 为空白组，b 为模型组，c 为阳性药组，d~f 为六味地黄丸低、中、高剂量组。与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 3 六味地黄丸提取物对 AD 模型线虫 p-AMPK、SIRT1 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)



注：与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 4 六味地黄丸提取物对 AD 模型线虫 *aak-1*、*sir-2.1*、*paqr-1* mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

人类 AD 中持续存在的特征。在 AD 大脑中可观察到能量产生减少、耗氧量降低、复合体 I 和 IV 活性下降。在 AD 转基因小鼠和过量表达 $\text{A}\beta$ 的线虫等模型生物中也观察到类似的代谢变化^[11-12]。脂联素 (adiponectin, APN) 是一种能够发挥神经保护、调节能量代谢的脂肪因子，其表达情况与线粒体功能相关^[13]。脂联素受体 1 (adiponectin receptor 1, AdipoR1) 作为 APN 重要受体之一^[14]，在神经元的细胞膜上广泛表达^[15]。AdipoR1 可以激活 AMPK，调节能量代谢^[16]，也可以激活 SIRT1，诱导过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助活化因子-1 α (PGC-1 α) 去乙酰化^[17]，发挥调节能量代谢的作用。本实验结果显示，六味地黄丸提取物能够上调 AD 模型线虫 AdipoR1 基因表达，可能是通过提高脂联素受体表达进而激活下游途径相关分子表达生物活性，发挥神经保护作用。

腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 是 APN 信号的主要下游组成部分，可感知细胞的

ATP 水平变化^[18]。在低能量条件下，AMPK 通过磷酸化特定的酶与生长控制节点来增加 ATP 的生成和减少 ATP 的消耗。AMPK 能调节细胞内线粒体网络的形状，刺激线粒体生物发生来控制线粒体数量，以及通过调节自噬和有丝分裂来控制线粒体质量^[19]。在 AD 中，AMPK 可以通过调节 β 和 γ 分泌酶的表达以减少 $\text{A}\beta$ 的沉积，从而改善痴呆症状和异常的大脑能量代谢^[20]。

沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 存在于细胞核和细胞质中。SIRT1 能增加线粒体生物发生、降低氧化应激^[21]，并且可以通过对 PGC-1 α 的去乙酰化来抑制 PPAR γ 表达，调节体内重要脏器的能量代谢^[22]。AMPK 与 SIRT1 在细胞稳态的调节中关系紧密，AMPK 通过增加细胞 NAD^+ 水平来增强 SIRT1 活性，从而实现下游 SIRT1 靶标的脱乙酰化和调节^[23]。由本实验结果可知，六味地黄丸组 p-AMPK、SIRT1 蛋白和 mRNA 表达均升高，提示六味地黄丸提取物在激活 AD 模型线虫 AdipoR1 后

进一步激活了下游的 AMPK 和 SIRT1 通路，发挥神经保护作用。

综上所述，本研究发现六味地黄丸提取物可通过增强 AD 模型线虫 AdipoR1 表达，激活 AMPK/SIRT1 信号通路调节能量代谢，改善神经元线粒体功能，发挥神经保护作用。以秀丽隐杆线虫为模式生物研究中药、中药复方防治 AD 具有一定的可行性，特别是从神经元能量代谢角度深入挖掘机制。

参考文献：

[1] Rabbito A, Dulewicz M, Kulczyńska-Przybik A, *et al.* Biochemical markers in Alzheimer’s disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 1989.

[2] Kerr J S, Adriaanse B A, Greig N H, *et al.* Mitophagy and Alzheimer’s disease: Cellular and molecular mechanisms[J]. *Trends Neurosci*, 2017, 40(3): 151-166.

[3] Sangha J S, Sun X, Wally O S, *et al.* Liuwei Dihuang (LWDH), a traditional Chinese medicinal formula, protects against β -amyloid toxicity in transgenic *Caenorhabditis elegans* [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43990.

[4] Chen W, Wang J, Shi J, *et al.* Longevity effect of Liuwei Dihuang in both *Caenorhabditis elegans* and aged mice[J]. *Aging Dis*, 2019, 10(3): 578-591.

[5] 李君玲, 周 恒, 林丽娜. 六味地黄丸辅佐治疗延缓老年痴呆症 40 例观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(1): 117-118.

[6] 王红梅, 宋彩梅, 刘新民, 等. 六味地黄丸对肾虚型老年痴呆动物模型的改善作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 112-116.

[7] 邱 琦, 徐艳明, 薛 傲, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术及网络药理学方法探讨六味地黄丸入脑成分改善 D-gal 模型大鼠学习记忆能力的作用机制[J]. 中国医院用药评价与分析, 2022, 22(11): 1294-1301.

[8] Dimov I, Maduro M F. The *C. elegans* intestine: organogenesis, digestion, and physiology[J]. *Cell Tissue Res*, 2019, 377(3): 383-396.

[9] Dosanjh L E, Brown M K, Rao G, *et al.* Behavioral phenotyping of a transgenic *Caenorhabditis elegans* expressing neuronal amyloid- β [J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 19(2): 681-690.

[10] Lin M T, Beal M F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases [J]. *Nature*, 2006, 443

(7113): 787-795.

[11] Muller W E, Eckert A, Kurz C, *et al.* Mitochondrial dysfunction: common final pathway in brain aging and Alzheimer’s disease—therapeutic aspects[J]. *Mol Neurobiol*, 2010, 41(2-3): 159-171.

[12] Schmitt K, Grimm A, Kazmierczak A, *et al.* Insights into mitochondrial dysfunction: aging, amyloid- β , and tau-A deleterious trio[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 16(12): 1456-1466.

[13] Chen Y, Yang Y, Liu Z, *et al.* Adiponectin promotes repair of renal tubular epithelial cells by regulating mitochondrial biogenesis and function[J]. *Metabolism*, 2022, 128: 154959.

[14] Frankenberg A D V, Reis A F, Gerchman F. Relationships between adiponectin levels, the metabolic syndrome, and type 2 diabetes: a literature review[J]. *Arch Endocrinol Metab*, 2017, 61(6): 614-622.

[15] Thundiyil J, Pavlovski D, Sobey C G, *et al.* Adiponectin receptor signalling in the brain[J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 165(2): 313-327.

[16] Niu K, Asada M, Okazaki T, *et al.* Adiponectin pathway attenuates malignant mesothelioma cell growth[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012, 46(4): 515-523.

[17] 郑 言, 曹中赞, 邱云桥, 等. 脂联素与其受体的结构及在脂类代谢中的作用机制[J]. 动物营养学报, 2022, 34(6): 1-8.

[18] Wu S, Zou M H. AMPK, mitochondrial function, and cardiovascular disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(14): 4987.

[19] Herzig S, Shaw R J. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(2): 121-135.

[20] Chen M, Huang N, Liu J, *et al.* AMPK: A bridge between diabetes mellitus and Alzheimer’s disease[J]. *Behav Brain Res*, 2021, 400: 113043.

[21] Bhagani H, Nasser S A, Dakroub A, *et al.* The mitochondria: A target of polyphenols in the treatment of diabetic cardiomyopathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(14): 4962.

[22] Tang B L. Sirt1 and the mitochondria[J]. *Mol Cells*, 2016, 39(2): 87-95.

[23] Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige J N, *et al.* AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity[J]. *Nature*, 2009, 458(7241): 1056-1060.