

紫花前胡素通过激活 PPAR 信号通路抑制髓核细胞凋亡

王冰钰, 邓志军, 胡涛, 李颢颜, 郭洁文

(广州医科大学附属中医医院药学部, 广东 广州 510130)

摘要 目的:探讨紫花前胡素(DE)抑制髓核细胞凋亡的作用及其机制。方法:体外培养大鼠原代髓核细胞,使用肿瘤坏死因子 α (TNF- α)构建椎间盘退变(IDD)模型。采用CCK-8法检测不同浓度DE对IDD模型髓核细胞活力的影响,并确定DE的最佳实验浓度进行后续实验。采用TUNEL染色、流式细胞术和免疫印迹法检测DE对髓核细胞凋亡的影响。采用转录组测序技术(RNA-seq)检测并使用Limma包分析模型组与DE处理组基因表达差异,通过GSEA分析信号通路的变化并进行验证。结果:DE可提高IDD模型髓核细胞的活力,抑制髓核细胞凋亡(均 $P<0.05$)。RNA-seq结果提示DE可激活过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)信号通路,进一步研究证实DE通过上调PPAR α 表达而增加髓核细胞活力、减少髓核细胞凋亡(均 $P<0.05$)。结论:DE通过激活PPAR信号通路抑制IDD模型髓核细胞凋亡。

关键词 紫花前胡素;过氧化物酶体增殖物激活受体;髓核细胞;细胞凋亡;椎间盘退行性变

中图分类号:R681.5 文献标识码:A 文章编号:2095-9664(2024)03-0011-08

Decursin inhibits apoptosis of nucleus pulposus cells by activating the PPAR signaling pathway

WANG Bingyu, DENG Zhijun, HU Tao, LI Haoyan, GUO Jiewen

(Department of Pharmacy, The Affiliated TCM Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510130, Guangdong, China)

Corresponding author: GUO Jiewen, Email: guo774@sina.com

Abstract Objective: To investigate the effect and mechanism of decursin (DE) on inhibiting apoptosis of nucleus pulposus cells. **Methods:** Primary rat nucleus pulposus cells were cultured *in vitro*, and tumor necrosis factor- α (TNF- α) was used to construct an intervertebral disc degeneration (IDD) model. CCK-8 assay was used to detect the effect of different concentrations of DE on the viability of nucleus pulposus cells in IDD model, and the optimal experimental concentration of DE was determined for subsequent experiments. The effects of DE on apoptosis of nucleus pulposus cells were detected by TUNEL staining, flow cytometry and Western blotting. The difference of gene expression between the model group and the DE treatment group was detected by transcriptome sequencing (RNA-seq), and analyze by Limma package. Additionally, the changes in signaling pathways between the two groups were examined through GSEA analysis and further validated experimentally. **Results:** DE could increase the viability of nucleus pulposus cells and inhibit the apoptosis of nucleus pulposus cells in IDD model (all $P<0.05$). RNA-seq results suggested that DE could activate the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) signaling pathway. Further studies confirmed that DE increased the viability of nucleus pulposus cells and reduced the apoptosis of nucleus pulposus cells by up-regulating PPAR α expression (all $P<0.05$). **Conclusion:** DE inhibits apoptosis of nucleus pulposus cells in IDD model by activating PPAR signaling pathway.

Key words decursin; peroxisome proliferator - activated receptors; nucleus pulposus cells; apoptosis; intervertebral disc degeneration

椎间盘退行性变 (intervertebral disc degeneration, IDD) 是一种常见的退行性疾病,其引起的分子、生化、细胞和解剖变化受遗传、衰老、机械损伤、营养不良等因素的影响^[1-2]。据统计,年龄大于50岁的人群中超过90%存在IDD^[3]。IDD早期主要表现为腰痛,若不及时干预,可逐渐进展导致脊柱正常结构和功能的丧失,并出现下肢感觉和肌力减退、马尾综合征、不全瘫等症状,严重影响患者的生活质量^[4-5]。髓核细胞是椎间盘的关键功能性细胞,对维持椎间盘形态和细胞外基质的稳定起着重要作用。异常凋亡、炎症反应和氧化应激等因素会引起和加速IDD的发展。因此,如何改善髓核细胞的生理状态、保护髓核细胞成为抑制IDD发展的重要研究方向。

中医传统医学认为IDD归属于“痹证”的范畴。《济生方·痹》云:“皆因体虚,腠理空疏,受风寒湿气而成痹也。”这一观点强调,正气不足是痹证形成的病理基础,外邪如风寒湿的入侵,导致病邪在体内滞留,使疾病缠绵不愈。中医治疗IDD的原则主要包括补肾益肝、健脾以增强自身正气,祛风散寒、除湿以驱逐外邪,并结合局部辨证,采用活血化瘀、祛腐生新的方法以畅通经络^[6]。随着国家对中医药事业的高度重视,运用中药治疗IDD的研究迅速发展。朝鲜当归具有祛风通络、活血止痛的功效,其提取物紫花前胡素(decursin, DE)则显示出显著的抗炎和抗氧化特性^[7-8]。研究表明,DE可抑制原发性肾上皮细胞凋亡、改善肾功能^[9]。然而DE在IDD治疗中的作用机制,尤其是对髓核细胞凋亡的影响和延缓IDD进展的潜能,目前尚不明确。因此,本研究旨在深入探讨DE在IDD治疗中的作用及其分子机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂

DMEM/F12细胞培养基和胰蛋白酶(武汉普赛诺),胎牛血清(美国Invitrogen),DE、MK886(上海麦克林),1%青霉素-链霉素(美国Sigma-Aldrich)。大鼠原代髓核细胞购自中国赛百慷公司。Caspase3抗体、Bax抗体、Bcl-2抗体、PPAR α 抗体和GAPDH抗体(美国Abcam)。CCK-8检测试剂盒(日本东仁),细胞凋亡和TUNEL检测试剂盒(中国锐博)。

1.2 方法

1.2.1 椎间盘髓核细胞的培养 大鼠原代髓核细胞用含15%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的

DMEM培养基在37℃、5%CO₂条件下培养,髓核细胞生长融合后被消化并进行亚培养,第二代细胞用于后续实验。使用10 ng/ml肿瘤坏死因子 α (TNF- α)构建IDD模型。

1.2.2 DE最佳浓度检测 当髓核细胞生长达80%~90%融合,使用胰酶消化处理后制成单细胞悬液。随后调整细胞浓度为 1×10^5 /ml,并接种至96孔板中,每孔添加100 μ l,每组实验设立3个复孔。设阴性对照组不进行任何处理。模型组加入10 ng/ml的TNF- α 预处理24 h,构建大鼠髓核细胞IDD模型;随后加入DE梯度浓度分别为5、10、20、40、80 μ mol/L,共5组为DE处理组。DE处理48 h后,向每孔加入10 μ l CCK-8溶液,继续在37℃、5%CO₂培养箱中培养2 h后,用酶标仪在波长为450 nm的条件下检测各孔的吸光度值(A值)。

1.2.3 TUNEL染色检测 经消化和离心后收集椎间盘髓核细胞,调整细胞密度,以每孔 5×10^3 个细胞接种于96孔板中。待细胞贴壁长至约80%融合,按各实验组的要求处理48 h,根据试剂盒说明书依次进行细胞固定与通透、TdT酶链反应和荧光染色。染色完成后,在倒置荧光显微镜下观察并记录图像。

1.2.4 流式细胞术检测 在相应药物处理48 h后,弃培养液,消化和离心后收集髓核细胞,用无菌PBS液反复清洗细胞3次,按Annexin V/PI双染检测试剂盒说明书用流式细胞术检测细胞凋亡。

1.2.5 免疫印迹检测 细胞经药物处理48 h,弃培养液后用无菌PBS液清洗3次。每瓶细胞中加入200 μ l细胞裂解液,置冰上裂解30 min。用细胞刮收集细胞提取蛋白,并使用BCA法测定蛋白浓度。取待测蛋白加入上样缓冲液后加热使蛋白变性,平衡蛋白浓度后上样行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),电转至PVDF膜上,封闭2 h,孵育一抗4℃过夜,用TBST清洗3次,常温下孵育二抗2 h,最后显影。

1.2.6 髓核细胞RNA测序 髓核细胞生长达80%~90%融合,用胰酶消化后制成单细胞悬液,并调整细胞浓度为 3×10^5 /ml。接种到六孔板中,每孔添加2 ml细胞悬液,每组设3个复孔。待细胞贴壁后,加入10 ng/ml的TNF- α 处理24 h,构建大鼠髓核细胞IDD模型。加入20 μ mol/L的DE处理48 h后,胰酶消化并收集髓核细胞,置入RNA保存液中,cDNA产物经Agilent 2100生物分析仪分析,超声片段化,并根据制造商说明使

用TruSeq[®]Nano DNA library Prep Kit(美国Illumina)构建文库,在Illumina HiSeq x-10测序系统上进行测序。使用HTSeq计算每个基因的reads数,利用内部Rscript计算每个基因的每百万映射读取的外显子模型每千碱基的读取数。

1.2.7 测序数据分析 采用R语言Limma包(3.54.2)进行基因差异表达分析。利用GSEA v4.0.3(<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/index.jsp>)分析模型组和DE处理组京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路的差异。使用R语言Limma包(3.54.2)进行差异表达分析,计算差异倍数(fold change, FC),以 $\log_2FC > 2$ 表示差异有统计学意义($P < 0.05$)。差异基因通过ClusterProfiler包(4.6.2)分析两组GSEA通路富集情况。

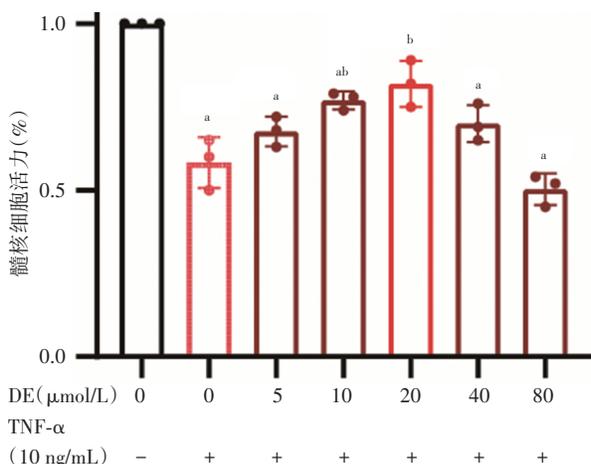
1.3 统计学分析

使用GraphPad Prism 8.0软件进行统计学分析。所有实验均重复3次,符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用One-way ANOVA检验,两组间比较采用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度DE对TNF- α 诱导髓核细胞活力的影响

本研究首先通过CCK-8法评估了DE对TNF- α 诱导的髓核细胞的细胞毒性作用,以确定其适宜浓度。结果表明,DE对TNF- α 诱导的髓核细胞活力具有剂量依赖性的促进作用,特别是20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下效果最佳。见图1。基于此,选定20 $\mu\text{mol/L}$ DE进行后续实验。



注:与阴性对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

图1 不同浓度DE对TNF- α 诱导的髓核细胞活力的影响

2.2 DE处理对IDD模型髓核细胞的影响

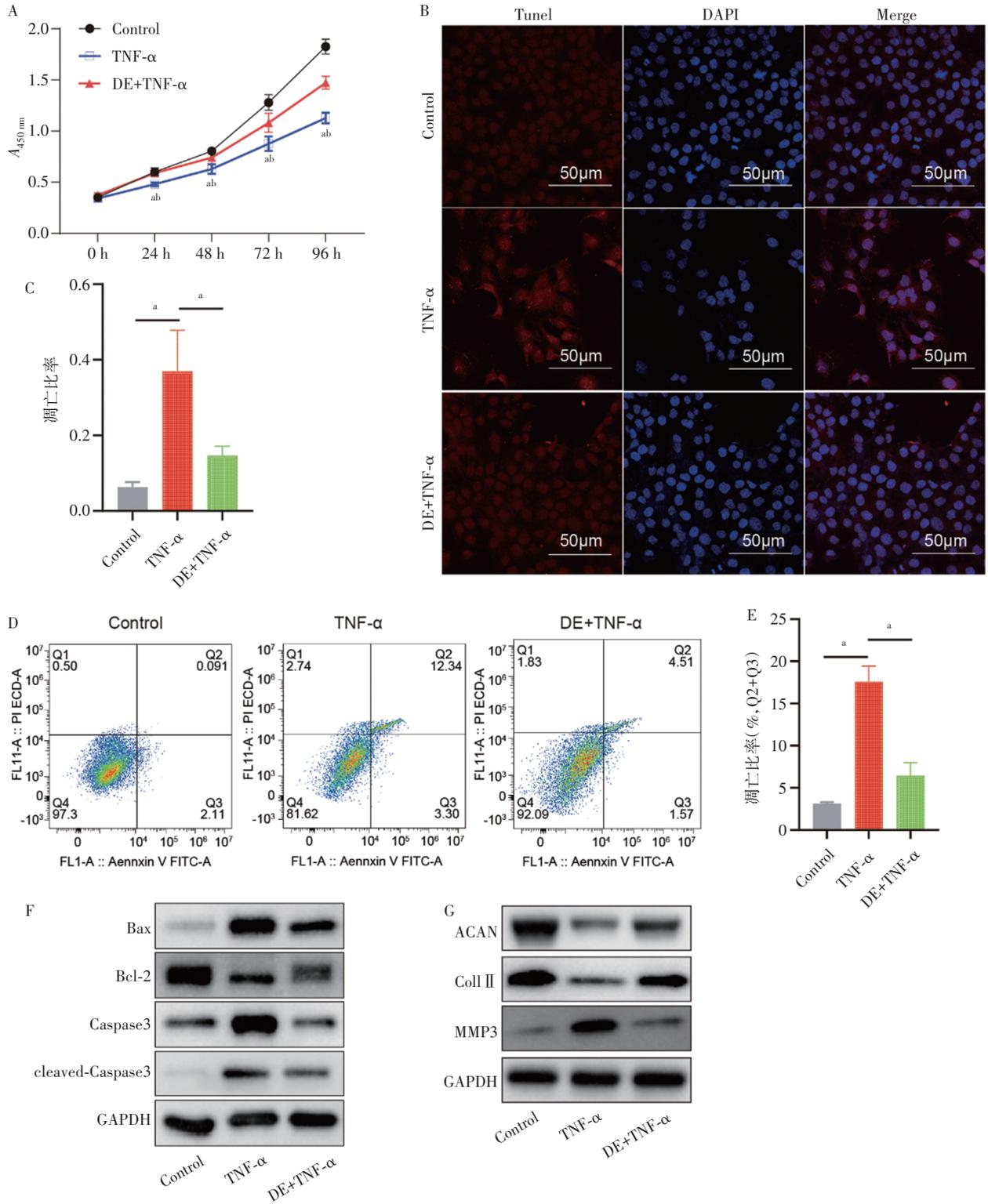
CCK-8结果显示,模型组(TNF- α 组)使用10 ng/ml TNF- α 处理24、48、72、96 h后,其 $A_{450\text{nm}}$ 值较阴性对照组(Control组)均显著降低(均 $P < 0.05$);而DE处理组(DE+TNF- α 组)加入20 $\mu\text{mol/L}$ DE处理24、48、72、96 h后,其 $A_{450\text{nm}}$ 值较模型组均显著升高(均 $P < 0.05$)。见图2A。TUNEL染色结果显示,与阴性对照组相比,模型组细胞凋亡率显著增加;而DE处理后,其凋亡率显著降低。见图2B~C。流式细胞术检测结果与此一致,表明DE显著降低了凋亡细胞比例,见图2D~E。免疫印迹分析进一步证实,DE处理后抑制凋亡标志物Bcl-2蛋白表达水平上升,而促进凋亡标志物Bax、Caspase3和cleaved-Caspase3蛋白表达水平下降,见图2F。此外,我们发现了DE可显著改善细胞外基质相关标志物聚蛋白聚糖(ACAN)、II型胶原(Coll II)和金属蛋白酶3(MMP3)表达,提示其可降低髓核细胞退变,见图2G。

2.3 DE处理对IDD模型髓核细胞影响相关信号通路检测

为研究DE减缓髓核细胞退变的机制,将模型组与DE处理组髓核细胞进行RNA测序,结果表明模型组与DE处理组共有1819个差异基因,其中1039个上调、780个下调,见图3A。将差异基因进行GSEA功能富集分析显示,模型组与DE处理组的差异基因主要富集的信号通路有蛋白质转运、核糖体、糖酵解与糖代谢合成和过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR)信号通路等,见图3B。基因富集分析结果显示PPAR信号通路的富集得分ES在前端(ES值 > 0),提示该通路在DE处理组中的基因表达量主要呈上调趋势,见图3C。图3A中PPAR信号通路中PPAR α 蛋白上调引起了我们的关注,免疫印迹结果进一步证实DE处理显著增加了PPAR α 蛋白的表达水平,见图3D。这表明DE可能通过激活PPAR信号通路而减缓髓核细胞退变。

2.4 DE通过上调PPAR α 保护IDD模型髓核细胞

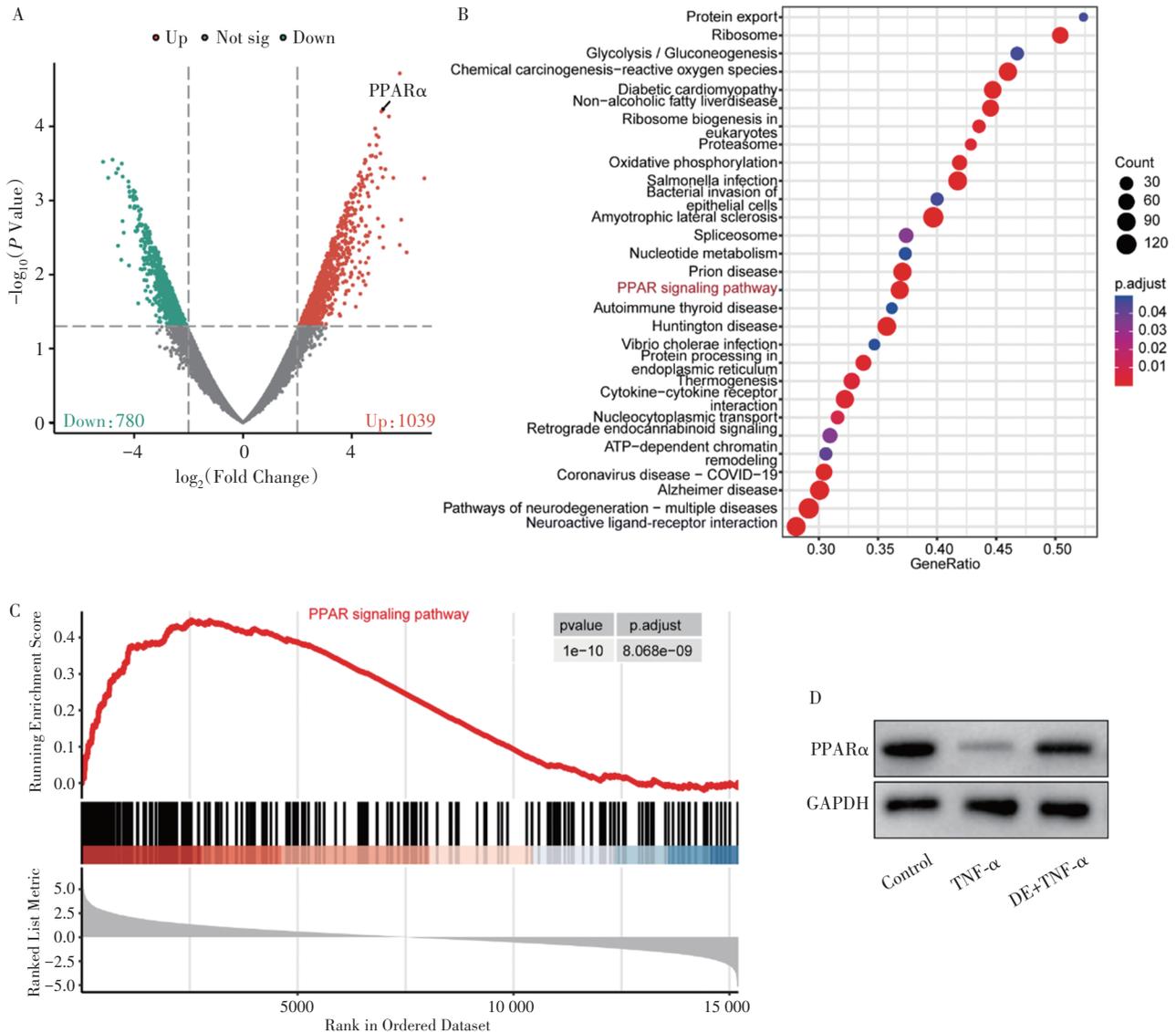
为进一步验证DE通过激活PPAR信号通路保护IDD模型中的髓核细胞,本研究使用PPAR α 受体抑制剂以阻断PPAR通路活性。CCK-8结果显示,与阴性对照组比较,处理后各时点模型组 $A_{450\text{nm}}$ 值均降低,而DE处理组 $A_{450\text{nm}}$ 值均显著升高(均 $P < 0.05$);加入PPAR α 抑制剂MK886后,处理后各时点其



注:A为CCK-8检测髓核细胞活力,阴性对照组与模型组比较,^a $P<0.01$;模型组与DE处理组比较,^b $P<0.05$;B-C分别为TUNEL染色检测髓核细胞凋亡和各组凋亡率统计图,与模型组比较,^a $P<0.05$;D-E为流式细胞术检测各组细胞凋亡及各组凋亡率统计图,与模型组比较,^a $P<0.05$;F为免疫印迹检测髓核细胞凋亡相关蛋白Bax、Bcl-2、Caspase3和cleaved-Caspase3的表达水平;G为免疫印迹检测髓核细胞退变相关标志物ACAN、Coll II和MMP3的表达。

图2 DE对髓核细胞IDD模型的细胞活力及细胞凋亡和退变的影响

$A_{450\text{nm}}$ 值较DE处理组均显著降低(均 $P<0.05$),且与模型组比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。见



注:A为模型组和DE处理组的差异基因火山图;B为气泡图展示KEGG、GSEA通路聚类分析富集到前20的信号通路;C为PPAR信号通路在GSEA-Hallmark中富集;D为免疫印迹检测PPAR信号通路相关蛋白PPAR α 的表达水平。

图3 DE上调IDD模型髓核细胞中PPAR α 表达

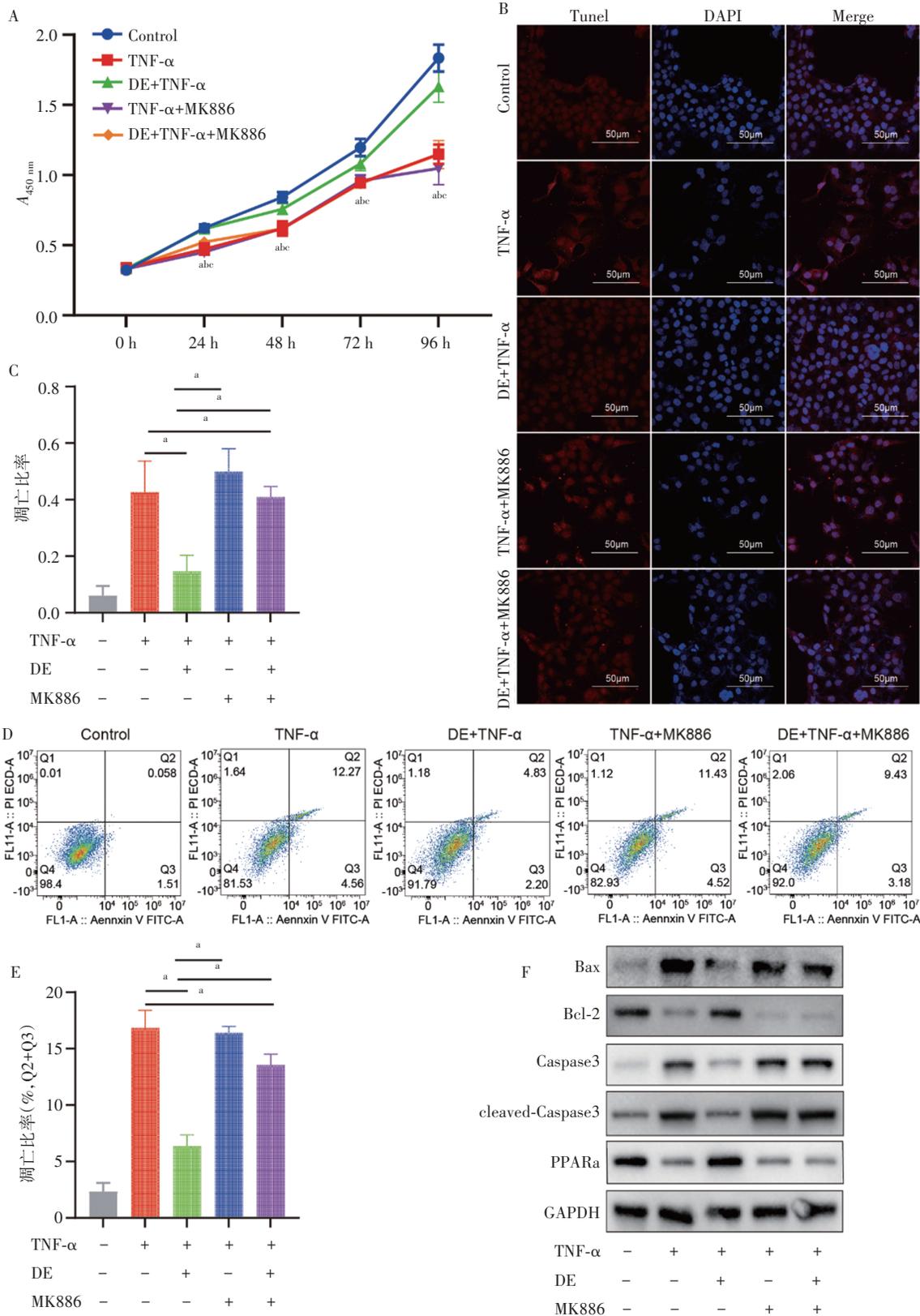
图4A。这表明DE通过上调PPAR α 增加IDD模型中髓核细胞的活力。

TUNEL染色和流式细胞术结果见图4B~E,显示与模型组相比,DE处理组细胞凋亡率显著下降;加入PPAR α 抑制剂MK886后,DE对髓核细胞的保护显著下降,即凋亡率显著升高(均 $P < 0.05$)。免疫印迹结果显示,与模型组比较,DE处理后PPAR α 蛋白和抑制凋亡蛋白Bcl-2表达水平明显升高,促进凋亡的Bax蛋白和Caspase3蛋白表达水平明显降低;加入PPAR α 抑制剂MK886后,DE对凋亡相关标志物蛋白的影响消失,见图4F。以上结果表明,DE通过上调PPAR α 表达减少髓核细胞凋亡。

3 讨论

髓核细胞的异常凋亡引起髓核细胞数量减少,可导致细胞外基质失去动态平衡,是导致IDD的关键原因^[10]。研究表明,减少髓核细胞凋亡能有效抑制IDD的进展^[11]。本研究采用TNF- α 刺激髓核细胞模拟体内IDD环境,构建髓核细胞IDD模型,探讨DE对髓核细胞退变的影响,结果表明DE可抑制退变髓核细胞凋亡;进一步机制研究表明,这一效应是通过上调PPAR α 的表达而激活PPAR信号通路实现的。

目前,对于DE的研究主要集中于肿瘤,且其作



注:A为CCK-8检测各组髓核细胞的细胞活力;阴性对照组与模型组比较,^a $P<0.01$;模型组与DE处理组比较,^b $P<0.01$;DE处理组与DE+MK886+TNF- α 组比较, $P<0.05$;B-C为TUNEL染色检测各组髓核细胞凋亡及凋亡率统计图;两组间比较,^a $P<0.05$;D-E为流式细胞术检测各组髓核细胞细胞凋亡水平及凋亡率统计图;两组间比较,^a $P<0.05$;F为免疫印迹检测髓核细胞凋亡相关蛋白Bax、Bcl-2、Caspase3和cleaved-Caspase3及PPAR信号通路相关蛋白PPAR α 的表达水平。

图4 DE在IDD模型髓核细胞中通过上调PPAR α 表达增强细胞活力及减少细胞凋亡

用机制存在显著差异。在结肠癌细胞中,DE可抑制细胞增殖、诱导其凋亡,并可降低其侵袭能力^[12]。在乳腺癌细胞中,DE可诱导周期G1和G2期停滞,进而诱导细胞凋亡^[13]。在肝癌细胞中,DE可诱导癌细胞线粒体损伤和细胞凋亡^[14]。然而,在非肿瘤研究中DE表现出抑制细胞凋亡的作用,如李翠琼等^[15]研究表明DE可抑制顺铂诱导的大鼠肾小管上皮细胞凋亡。Wang等^[16]研究表明,DE在人主动脉内皮细胞氧化损伤模型中可显著降低细胞凋亡。Zhu等^[17]发现DE能抑制人支气管上皮细胞和肺动脉内皮细胞凋亡,减少肺上皮细胞损伤。DE在肿瘤和非肿瘤细胞中发挥不同的作用机制,可能与其在细胞内积累有关,DE发挥生物学功能呈浓度依赖性^[16];肿瘤细胞的增生活跃,可能导致其过度积累,进而导致肿瘤细胞凋亡。此外,DE在非肿瘤的研究中主要集中于细胞损伤模型中,本研究采用的髓核细胞IDD模型也属于细胞损伤模型,本研究发现DE可显著抑制退变的髓核细胞凋亡。

PPAR是调节能量代谢的核激素受体超家族的脂肪酸激活转录因子,共有3种亚型:PPAR α 、PPAR γ 和PPAR β/δ ^[18]。PPAR α 在细胞应对炎症反应、损伤、应激等过程中扮演重要角色^[19]。肠道菌群相关研究显示,其失调通过下调PPAR α -CYP4X1轴,促进结肠巨噬细胞M1样极化和促炎因子TNF- α 和白细胞介素1 β (IL-1 β)的产生,从而引起心肌细胞凋亡^[20]。PPAR α 的沉默可加重酒精性脂肪肝中肝细胞凋亡和炎症反应,促进肝损伤、激活核因子 κ B(NF- κ B)信号通路^[21]。在糖尿病视网膜病中,抑制PPAR α 甲基化以增加其表达,可减少细胞凋亡^[22]。因此,PPAR α 信号通路在IDD中抑制炎症反应及活性氧损伤等机制都表明其可能对髓核具有保护作用,而本实验结果表明DE通过作用于PPAR α 受体激活PPAR信号通路,从而减少髓核细胞凋亡。中医药在调节PPAR信号通路方面的研究也取得了一定进展,如Liao等^[23]研究表明参芪注射液可以通过上调PPAR α 抑制炎症,减少心肌细胞凋亡等多种途径对心肌缺血再灌注损伤发挥保护作用。朱水兰等^[24]研究表明,葛根可能通过激活PPAR α 以调控脂肪细胞糖脂代谢,改善脂肪细胞胰岛素抵抗。Huang等^[25]发现白藜芦醇同样通过该通路改善非酒精性脂肪肝的脂质代谢及氧化应激。本研究表明DE也是通过PPAR α 的作用抑制髓核细胞凋亡。

然而,本研究也存在一定的局限性,首先,我们没有进行体内试验验证DE对IDD的治疗效果;其次,对于DE通过PPAR信号通路改善IDD的具体调控机制仍然需要更深入的探究。

综上所述,本研究发现作为一种中药成分DE通过激活PPAR信号通路而减少髓核细胞凋亡,为其在IDD治疗中的应用提供了依据,展现了中医药在退行性病变治疗方面的潜力。

参考文献

- [1] Lyu FJ, Cui H, Pan H, et al. Painful intervertebral disc degeneration and inflammation: from laboratory evidence to clinical interventions[J]. *Bone Res*, 2021, 9(1): 7.
- [2] Vergroesen PP, Kingma I, Emanuel KS, et al. Mechanics and biology in intervertebral disc degeneration: a vicious circle [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(7): 1057-1070.
- [3] Chen L, Battié MC, Yuan Y, et al. Lumbar vertebral endplate defects on magnetic resonance images: prevalence, distribution patterns, and associations with back pain[J]. *Spine J*, 2020, 20(3): 352-360.
- [4] Francisco V, Pino J, González-Gay MÁ, et al. A new immunometabolic perspective of intervertebral disc degeneration [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2022, 18(1): 47-60.
- [5] Zehra U, Tryfonidou M, Iatridis JC, et al. Mechanisms and clinical implications of intervertebral disc calcification [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2022, 18(6): 352-362.
- [6] 何敢声,王啸华,王智成,等. 从“治未病”思想探讨腰椎退行性疾病的防治[J]. *北京中医药*, 2023, 42(7): 755-758.
- [7] Ko MJ, Kwon MR, Chung MS. Pilot-scale subcritical-water extraction of nodakenin and decursin from *Angelica gigas* Nakai [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2020, 29(5): 631-639.
- [8] Shehzad A, Parveen S, Qureshi M, et al. Decursin and decursinol angelate: molecular mechanism and therapeutic potential in inflammatory diseases [J]. *Inflamm Res*, 2018, 67(3): 209-218.
- [9] Kim JH, Jeong SJ, Kwon HY, et al. Decursin prevents cisplatin - induced apoptosis via the enhancement of antioxidant enzymes in human renal epithelial cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(8): 1279-1284.
- [10] Li Z, Ye D, Dai L, et al. Single - cell RNA sequencing reveals the difference in human normal and degenerative nucleus pulposus tissue profiles and cellular interactions [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 910626.

- [11] Liao Z, Luo R, Li G, et al. Exosomes from mesenchymal stem cells modulate endoplasmic reticulum stress to protect against nucleus pulposus cell death and ameliorate intervertebral disc degeneration in vivo[J]. *Theranostics*, 2019,9(14): 4084-4100.
- [12] Ge Y, Yoon SH, Jang H, et al. Decursin promotes HIF-1 α proteasomal degradation and immune responses in hypoxic tumour microenvironment [J]. *Phytomedicine*, 2020,78: 153318.
- [13] Jiang C, Guo J, Wang Z, et al. Decursin and decursinol angelate inhibit estrogen - stimulated and estrogen - independent growth and survival of breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Res*,2007,9(6): R77.
- [14] Song YR, Jang B, Lee SM, et al. Angelica gigas NAKAI and its active compound, decursin, inhibit cellular injury as an antioxidant by the regulation of AMP - activated protein kinase and YAP signaling[J]. *Molecules*,2022,27(6): 1858.
- [15] 李翠琼,李健春,樊均明,等. 紫花前胡素能降低大鼠肾小管上皮细胞活性氧并抑制顺铂诱导的细胞凋亡[J]. *细胞与分子免疫学杂志*,2017,33(10): 1328-1334.
- [16] Wang X, Yu J, Ji B, et al. Decursin inhibits the oxidation of low - density lipoprotein and protects human aortic endothelial cells against oxidative damage [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*,2020,66(3): 155-158.
- [17] Zhu J, Dong X. Decursin alleviates LPS - induced lung epithelial cell injury by inhibiting NF - κ B pathway activation [J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2023, 51(1): 37-43.
- [18] Derosa G, Sahebkar A, Maffioli P. The role of various peroxisome proliferator - activated receptors and their ligands in clinical practice [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(1): 153-161.
- [19] Christofides A, Konstantinidou E, Jani C, et al. The role of peroxisome proliferator - activated receptors (PPAR) in immune responses[J]. *Metabolism*,2021,114: 154338.
- [20] Markkanen H, Lappalainen R, Honkala E, et al. Periodontal conditions with removable complete and partial dentures in the adult population aged 30 years and over[J]. *J Oral Rehabil*,1987,14(4): 355-360.
- [21] Kong L, Chen J, Ji X, et al. Alcoholic fatty liver disease inhibited the co - expression of Fmo5 and PPAR α to activate the NF - κ B signaling pathway, thereby reducing liver injury via inducing gut microbiota disturbance [J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2021,40(1): 18.
- [22] Zhu Y, Wang X, Zhou X, et al. DNMT1-mediated PPAR α methylation aggravates damage of retinal tissues in diabetic retinopathy mice[J]. *Biol Res*,2021,54(1): 25.
- [23] Liao J, Hao C, Huang W, et al. Network pharmacology study reveals energy metabolism and apoptosis pathways-mediated cardioprotective effects of Shenqi Fuzheng [J]. *J Ethnopharmacol*,2018,227: 155-165.
- [24] 朱水兰,许文华,李冰涛,等. 葛根调控 PPARs 信号通路改善脂肪细胞胰岛素抵抗的体外研究[J]. *中药新药与临床药理*,2023,34(3): 287-295.
- [25] Huang Y, Lang H, Chen K, et al. Resveratrol protects against nonalcoholic fatty liver disease by improving lipid metabolism and redox homeostasis via the PPAR α pathway [J]. *Appl Physiol Nutr Metab*,2020,45(3): 227-239.

(收稿日期:2023-12-24)

(本文编辑:孙勇)