

文章编号: 1005-0957 (2023) 09-0964-07

• 动物实验 •

电针对胰岛素抵抗大鼠肝脏组织自噬相关蛋白表达的影响

易璇, 陈丽, 王静芝, 王雅媛, 郑紫桐, 梁凤霞
(湖北中医药大学, 武汉 430065)

【摘要】 目的 观察电针对胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)大鼠肝脏组织自噬相关蛋白表达的影响, 探讨电针治疗 IR 的潜在机制。**方法** 将 Wistar 雄性大鼠随机分为正常组、模型组和电针组, 每组 8 只。电针干预选取中脘、关元、足三里及丰隆穴, 每周干预 3 次, 共 8 周。检测各组大鼠的餐后血糖(postprandial blood glucose, PBG)、腹腔糖耐量实验(intraperitoneal glucose tolerance test, IPGTT)血糖、葡萄糖输注率(glucose infusion rate, GIR)。采用高压尾静脉注射 GFP-LC3 质粒, 观察肝细胞 GFP-LC3 荧光斑, Western Blot 法检测大鼠肝脏组织中微管相关蛋白 1 轻链 3B-II (microtubule-associated protein 1 light chain 3B-II, LC3B-II)、p62(sequestosome 1, p62)、蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)、磷酸化蛋白激酶 B(phosphorylated-AKT, p-AKT)、胰岛素受体底物-1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)、磷酸化胰岛素受体底物-1(phosphorylated-IRS-1, p-IRS-1)蛋白表达。**结果** 与正常组比较, 模型组 PBG 显著上升($P < 0.01$), GIR 显著降低($P < 0.01$), IPGTT 血糖水平明显上升($P < 0.05$), 肝脏组织 p62 蛋白表达显著上升($P < 0.01$), LC3B-II 蛋白表达显著降低($P < 0.01$), IRS-1、p-AKT、p-IRS-1 蛋白表达显著降低($P < 0.01$), GFP-LC3 绿色荧光蛋白荧光密度显著降低($P < 0.01$); 与模型组相比, 电针组 PBG 显著降低($P < 0.05$), GIR 显著上升($P < 0.01$), IPGTT 血糖水平明显降低($P < 0.05$), 肝脏组织 p62 蛋白表达显著降低($P < 0.01$), LC3B-II 蛋白表达显著上升($P < 0.01$), p-IRS-1 蛋白表达显著上升($P < 0.05$), GFP-LC3 绿色荧光蛋白荧光密度显著上升($P < 0.01$)。**结论** 电针可以通过激活肝脏自噬提高全身与肝脏胰岛素敏感性, 改善 IR。

【关键词】 电针; 胰岛素抵抗; 自噬; 微管相关蛋白 1 轻链 3B; p62 蛋白; 大鼠

【中图分类号】 R2-03 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2023.13.3003

Effect of electroacupuncture on autophagy-related protein expression in liver tissues of insulin-resistant rat models YI Xuan, CHEN Li, WANG Jingzhi, WANG Yayuan, ZHENG Zitong, LIANG Fengxia. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

[Abstract] Objective To observe the effect of electroacupuncture on autophagy-related protein expression in liver tissues of insulin-resistant rat models and explore the potential mechanism of electroacupuncture in treating insulin resistance (IR). **Method** Male Wistar rats were randomized into a normal group, a model group, and an electroacupuncture group, with 8 rats in each group. Points Zhongwan (CV12), Guanyuan (CV4), Zusanli (ST36), and Fenglong (ST40) were selected for electroacupuncture treatment, 3 times a week for 8 weeks. The postprandial blood glucose (PBG), intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) blood glucose, and glucose infusion rate (GIR) in each group were determined. The fluorescent spot of GFP-LC3 in hepatocytes was observed using high-pressure tail vein injection of GFP-LC3 plasmid; Western Blot was used to detect the protein expression of microtubule-associated protein 1 light chain 3B-II (LC3B-II), sequestosome 1 (p62), protein kinase B (AKT), phosphorylated AKT (p-AKT),

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81804170, 81904276)

作者简介: 易璇 (1993—), 女, 2020 级硕士生, Email: 2274516730@qq.com

通信作者: 陈丽 (1988—), 女, 副教授, Email: 262869088@qq.com

insulin receptor substrate-1 (IRS-1), and phosphorylated IRS-1 (p-IRS-1) in rat liver tissues. **Result** Compared with the normal group, the PBG increased significantly ($P<0.01$), the GIR dropped notably ($P<0.01$), the IPGTT blood glucose level rose significantly ($P<0.05$), the liver tissue p62 protein expression increased significantly ($P<0.01$), the LC3B-II protein expression decreased significantly ($P<0.01$), the protein expression of IRS-1, p-AKT, and p-IR2-1 dropped notably ($P<0.01$), and the green fluorescent protein density of GFP-LC3 decreased significantly ($P<0.01$) in the model group. Compared with the model group, the PBG dropped significantly ($P<0.05$), the GIR increased markedly ($P<0.01$), the IPGTT blood glucose level dropped notably ($P<0.05$), the liver tissue p62 protein expression dropped notably ($P<0.01$), the LC3B-II protein expression increased significantly ($P<0.01$), the p-IRS-1 protein expression increased significantly ($P<0.05$), and the green fluorescent protein density of GFP-LC3 increased significantly ($P<0.01$) in the electroacupuncture group. **Conclusion** Electroacupuncture can activate autophagy in the liver to elevate systemic and hepatic insulin sensitivity and ultimately improve IR.

[Key words] Electroacupuncture; Insulin resistance; Autophagy; Microtubule-associated protein 1 light chain 3B; Sequestosome 1 protein; Rats

胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是指由多种因素引起的机体对胰岛素敏感性降低的一种病理状态^[1]。国内外研究表明,电针能够有效改善 IR,其机制包括减轻炎症、调控脂质代谢、调节胰岛素信号通路等环节^[2-4]。肝脏是胰岛素的重要靶器官之一,肝脏的脂肪浸润程度越高,胰岛素敏感性越差,降低肝脏脂肪含量能够提高机体胰岛素敏感性,改善 IR^[5]。且自噬是脂肪降解和储存的重要环节^[6],自噬可以维持肝脏脂质代谢稳态,并提高肝脏胰岛素敏感性;而抑制肝细胞自噬,则会降低肝脏胰岛素敏感性^[7-9]。因此,自噬可能是调控胰岛素敏感性的突破口。

有研究表明,电针具有调控自噬相关蛋白的作用^[10-11],但在不同的疾病与组织中,电针对自噬的调控效应并不相同。为进一步明确电针对 IR 状态下肝脏自噬的调控作用,本研究建立 IR 大鼠模型,通过电针中脘、关元、足三里和丰隆观察胰岛素敏感性与肝脏自噬水平的变化,进一步研究电针治疗 IR 的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

40 只 7 周龄 Wistar 雄性大鼠,体质量(220 ± 20)g。购于湖北省实验动物研究中心,许可证号为 SCXK(鄂)2020-0018。所有大鼠以普通饲料适应性饲养 1 周。饲养于湖北中医药大学 SPF 级动物房,大鼠自由饮食与饮水,12 h 明暗交替。实验严格遵守《关于善待实验动物的指导性意见》中的各项规定。

1.2 主要试剂与仪器

RIPA 裂解液(AS1004, ASPEN)、BCA 蛋白质浓度测定试剂盒(AS1086, ASPEN)、ECL 化学发光检测试剂盒(AS1059, ASPEN)、磷酸化蛋白酶抑制剂(AS1008, ASPEN)、 β -Actin 抗体(TDY051, 天德悦), p62(sequestosome 1, p62)一抗(ab109012, abcam), 微管相关蛋白 1 轻链 3B(microtubule-associated protein 1 light chain 3B, LC3B)一抗(43566, CST)、胰岛素受体底物-1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)一抗(2382, CST)、磷酸化胰岛素受体底物-1(phosphorylated-IRS-1, p-IRS-1)一抗(2385, CST)、蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)一抗(9272, CST)、磷酸化蛋白激酶 B(phosphorylated-AKT, p-AKT)一抗(4060, CST), HRP-Goat anti Rabbit 二抗(AS1107, ASPEN)。电针治疗仪(HANS LH202H, 北京华运安特科技有限责任公司),冷冻离心机(TGL-16, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),电泳仪(DYY-6C, 北京市六一仪器厂),扫描仪(LiDE110, Canon),生物显微镜(BX53, 奥林巴斯)。

1.3 模型制备及评价

适应性饲养 1 周后,随机选取 10 只以普通饲料喂养,8 周后随机选取其中 8 只作为正常组,剩余 30 只以高脂饲料^[12]喂养 8 周,制备 IR 大鼠模型。将高于正常组体质量平均值 20%的 28 只大鼠随机取 3 只检测其葡萄糖输注率(glucose infusion rate, GIR),若所测大鼠的 GIR 小于正常组 20%则认定为造模成功。将造模成功的 28 只大鼠随机进行编号,并挑选 16 只随机分入

模型组与电针组, 每组 8 只。

高胰岛素-正葡萄糖钳夹术(hyperinsulinemic-euglycemic-clamp, HEC)检测 GIR, 钳夹术前大鼠禁食 8 h, 在大鼠尾根部注射局麻, 行尾动静脉插管。将胰岛素注射液和 30%葡萄糖注射液分别连接在尾静脉的小三通管上, 两者均以双数字式微量注射泵泵入。取尾动脉血 0.5 mL 测基础血糖。接着以恒定速度 $[0.25 \mu\text{L}/(\text{kg} \cdot \text{h})]$ 输入胰岛素, 每 5 min 测 1 次血糖并调整 GIR。血糖须保持在基础血糖 $\pm 0.5 \text{ mmol/L}$ 范围内。共采血 24 次, 计算 60~120 min 的 GIR 的平均值。

1.4 干预方法

选取中脘、关元、足三里及丰隆穴进行电针干预, 取穴参考《实验针灸学》^[13]。针具选择 0.30 mm×13 mm 不锈钢毫针。足三里和丰隆均直刺入 3~5 mm, 关元和中脘斜刺 3~5 mm。频率 2 Hz, 强度 1 mA, 连续波。同侧足三里和丰隆连接同一输出的两个电极, 关元和中脘连接另一输出的两个电极。隔日干预, 每周干预 3 次, 每次 10 min, 共干预 8 周。

1.5 标本采集

干预结束后, 采用 2%戊巴比妥钠溶液 (0.25 mL/100 g) 腹腔注射麻醉。取肝脏组织并迅速放入液氮中。之后转入 -80 °C 冰箱, 冻存备检。

1.6 指标检测

1.6.1 餐后血糖(postprandial blood glucose, PBG)及腹腔糖耐量实验(intraperitoneal glucose tolerance test, IPGTT)血糖

干预前及干预 8 周后, 对各组大鼠进行尾尖取血, 用快速血糖仪测定大鼠 PBG。干预 6 周后, 行 IPGTT 检测, 操作前尾尖取血测空腹血糖 (0 min), 根据大鼠体质量行 50%葡萄糖腹腔注射, 注射后 30 min、60 min、90 min、120 min 尾尖取血, 检测血糖值。

1.6.2 GIR 检测

干预 8 周后, 每组大鼠各取 3 只行 HEC 检测 GIR, 测定全身胰岛素敏感性。

1.6.3 大鼠肝脏组织中 LC3B-II、p62、IRS-1、p-IRS-1、AKT、p-AKT 蛋白表达检测

取出冻存的待检组织 50 mg, 提取总蛋白, 测定其浓度, 进行 SDS-PAGE 电泳, 之后进行转膜、封闭。孵育一抗 [β -actin (1:10 000), LC3B (1:1 000), p62 (1:2 000), IRS-1 (1:500), p-IRS-1 (1:500), AKT (1:2 000), p-AKT (1:1 000)] 过夜, 孵育二抗 1 h, 暗室中

曝光。以 β -actin 为内参蛋白, 分析目的蛋白相对表达水平。

1.6.4 GFP-LC3 荧光检测

大鼠于处死前给予高压尾静脉注射 GFP-LC3 腺病毒 0.166 mL, 给药后饲养 5 d, 进行取材。取部分组织进行 OCT 包埋、冰冻切片、荧光显微镜观察并拍照, 利用 Image-Pro Plus 分析平均光密度值。

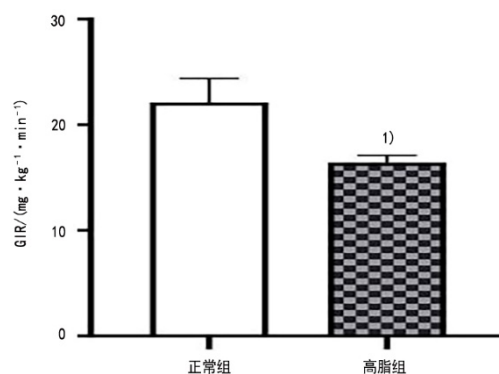
1.7 统计学方法

使用 SPSS22.0 统计软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示, 方差齐则采用单因素方差分析进行组间比较, 并采用 LSD 法进行两两比较。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型评价

与正常组比较, 造模后高脂组大鼠 GIR 显著下降 ($P < 0.05$), 说明 IR 大鼠模型制备成功。详见图 1。



注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.05$ 。

图 1 造模后正常组与高脂组大鼠 GIR 的比较

($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.2 3 组大鼠 PBG、IPGTT、GIR 比较

与正常组比较, 模型组 PBG 显著上升 ($P < 0.01$), GIR 显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组 PBG 显著下降 ($P < 0.05$), GIR 显著上升 ($P < 0.01$)。在 IPGTT 实验中, 各组大鼠腹腔注射葡萄糖 30 min 后, 血糖水平迅速升高达到峰值, 然后逐渐降低。模型组大鼠 IPGTT 血糖水平明显高于正常组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 电针组 IPGTT 血糖水平明显低于模型组 ($P < 0.05$)。详见图 2-图 4。

2.3 3 组大鼠肝脏组织 IRS-1、p-IRS-1、AKT、p-AKT 蛋白表达比较

与正常组比较, 模型组肝脏组织 IRS-1、p-IRS-1、

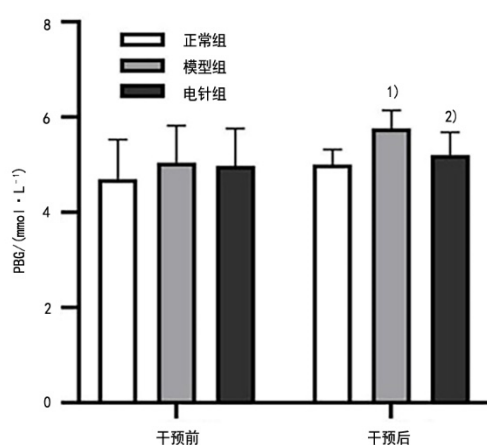
p-AKT 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组肝脏组织 p-IRS-1 蛋白表达显著上升 ($P < 0.05$)。IRS-1、AKT、p-AKT 蛋白表达有上升趋势, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。详见图 5。

2.4 3 组大鼠肝脏组织 p62、LC3B-II 蛋白表达比较

与正常组比较, 模型组肝脏组织 p62 蛋白表达显著上升 ($P < 0.01$), LC3B-II 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组肝脏组织 p62 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$), LC3B-II 蛋白表达显著上升 ($P < 0.01$)。详见图 6。

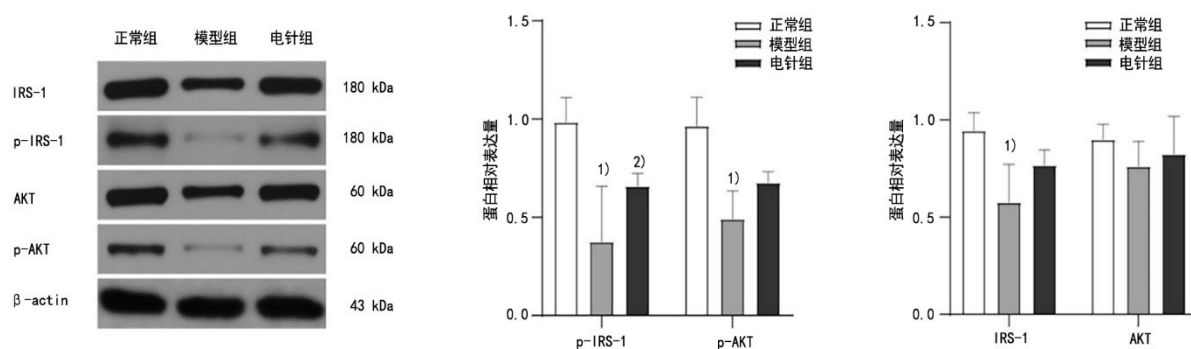
2.5 3 组大鼠 GFP-LC3 荧光比较

与正常组比较, 模型组 GFP-LC3 绿色荧光蛋白荧光密度显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 电针组 GFP-LC3 绿色荧光蛋白荧光密度显著上升 ($P < 0.01$)。详见图 7。



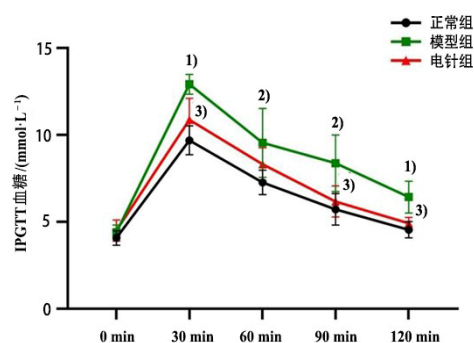
注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

图 2 3 组大鼠 PBG 的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)



注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

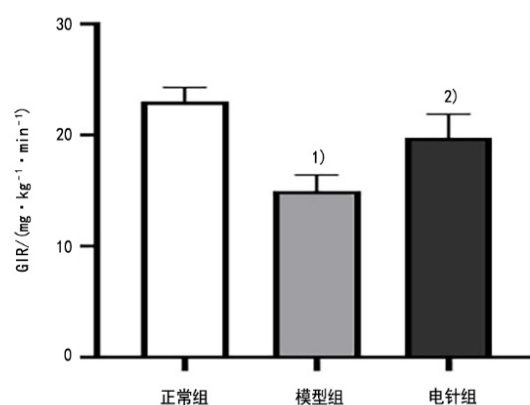
图 5 各组大鼠肝脏 IRS-1、p-IRS-1、AKT、p-AKT 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)



注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$;

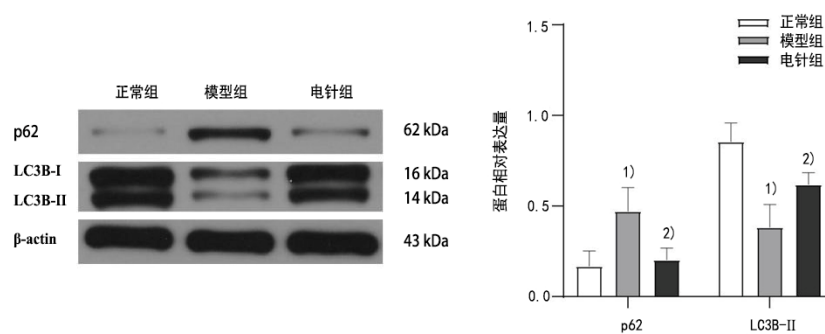
与模型组比较 ³⁾ $P < 0.05$ 。

图 3 3 组大鼠 IPGTT 血糖比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)



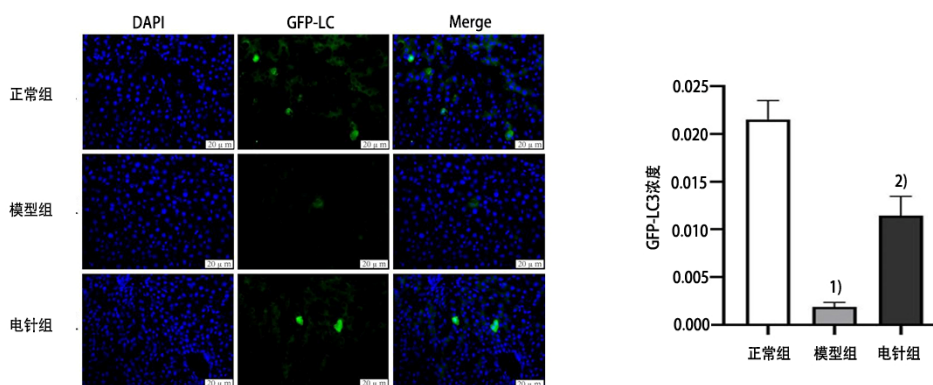
注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.01$ 。

图 4 3 组大鼠 GIR 的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

图6 3组大鼠肝脏组织 p62、LC3B-II 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)



注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

图7 各组大鼠 GFP-LC3 荧光的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

3 讨论

大量的临床及动物研究^[14-17]证实,电针能有效治疗 IR 相关疾病,并且有环保安全、无不良反应等优势。中医学认为 IR 与痰浊内阻、脾肾亏损等密切相关^[18],故可从化痰祛湿、补益脾肾着手进行治疗。中脘、关元、足三里和丰隆为针刺治疗 IR 研究的常用穴^[19],关元和足三里固护先天肾气之本和后天脾胃之本,提升机体正气,避免向糖尿病和多囊卵巢综合征等 IR 相关性疾病转化;配伍中脘和丰隆理气化痰祛湿,祛除病邪。有研究表明,高脂饮食能促进大鼠的肥胖与 IR,并且 Wistar 大鼠经过高脂饮食饲料喂养建模能较好地模拟 IR 的临床自然过程^[20-21]。IRS-1 与 Akt 是关键的肝脏胰岛素信号调控因子^[22],IRS-1 磷酸化后,Akt 发生磷酸化,使葡萄糖转移至细胞内,从而改善 IR^[23]。若胰岛素代谢分泌异常,将造成上述功能障碍。因此,本研究采用高脂饮食饲喂法,制备 IR 大鼠模型,并选取中脘、关元、足三里和丰隆进行电针治疗。检测大鼠肝脏组织中 IRS-1、p-IRS-1、AKT、p-AKT 蛋白表达,以观察肝脏胰岛素敏感性的变化;检测大鼠 GIR,以观

察全身胰岛素敏感性的变化。结果显示,与正常组相比,模型组 PBG 显著上升,GIR 显著降低,IPGTT 血糖水平明显上升,肝脏组织 IRS-1、p-AKT、p-IRS-1 蛋白表达显著降低;与模型组相比,电针组 PBG 显著降低,GIR 显著上升,IPGTT 血糖水平明显降低,肝脏组织 p-IRS-1 蛋白表达显著上升。提示高脂饮食会引起胰岛素敏感性降低,导致 IR,而电针治疗能够提高胰岛素敏感性,从而改善 IR。这与现有研究^[24-25]较为一致。研究表明,自噬水平的变化与 IR 呈负相关^[26-27],IR 状态下,肝脏自噬相关基因表达显著降低,提示 IR 与肝脏自噬水平下降密切相关,且肝脏自噬受损可导致 IR 的发生发展^[28]。故此,自噬成为 IR 机制研究的热点。目前关于 IR 的研究多为电针对脂质生成和水平的影响,自噬虽是脂肪降解和储存的重要环节,但对自噬的相关报道甚少,导致其深入的机制未揭示。因此,本研究从自噬角度入手,研究电针改善 IR 效应与肝脏自噬水平的关系,结果显示电针可以通过激活肝脏自噬改善全身与肝脏胰岛素敏感性,明确了自噬在治疗中的作用,对既往研究结果进行了补充。

微管相关蛋白 1 轻链 3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)和 p62 是自噬相关的重要标志物^[29], LC3 是检测自噬发生的标志性蛋白。当自噬作用发生的时候, I 型经泛素样反应与磷脂酰乙醇胺结合, 并直接形成 II 型, 此时, LC3 含量与自噬泡数成正比例关系^[30-31]。LC3-II 可反映自噬活性水平, 其值越大, 自噬越强, 反之则越弱。LC3 蛋白共分为多种亚型, 其中 LC3B 起到自噬调控作用, 与自噬的关系最密切, 通过结合脂质形成 LC3B-II 发挥自噬功能^[32]。p62 是泛素化蛋白, 可以和底物蛋白及 LC3-II 特定结构域结合, 有利于底物进入自噬体被降解, p62 越高表示自噬越弱, 反之则越强^[33]。通过荧光显微镜观察肝细胞 GFP-LC3 荧光斑可很好地监测细胞自噬, 当发生细胞自噬时, 细胞自噬强度与 GFP 荧光强度成正比, 自噬强度越强, 荧光强度越强。本研究结果显示电针干预后 IR 大鼠 LC3B-II 蛋白表达显著上升, p62 蛋白表达均显著下降, 电针组 GFP-LC3 荧光密度显著上升, 由此可推论电针激活了大鼠肝脏细胞自噬。

研究证实电针对细胞自噬具有调节作用。田洪昭等^[34]发现, 电针可增加自噬相关蛋白 LC3-II 表达, 降低 p62 的表达, 促进自噬流修复损伤脊髓。黄小珍等^[35]通过研究后发现, 电针可降低脊髓及神经组织 p62 的蛋白含量, 对神经根型颈椎病大鼠具有显著镇痛作用, 可通过调节大鼠脊髓及神经组织神经细胞的自噬保护神经细胞。有研究发现, 电针治疗可降低 LC3 的表达, 上调 p62 的表达, 有效抑制肥胖大鼠白色脂肪组织的自噬水平^[36]。本研究结果显示, 电针可以上调 LC3B-II 表达, 下调 p62 表达, 提示电针能激活肝脏自噬, 与以上众多研究报道相符。

综合上述内容, 电针疗法可提高 IR 大鼠全身及肝脏胰岛素敏感性, 有效改善 IR, 其作用机制可能与调节 LC3B-II 和 p62 的表达, 从而激活肝脏自噬有关。

参考文献

- [1] 刘妍, 常丽萍, 高怀林. 胰岛素抵抗的发病机制研究进展[J]. 世界中医药, 2021, 16(11): 1671-1674.
- [2] WANG H, CHEN X, CHEN C, *et al.* Electroacupuncture at lower He-Sea and Front-Mu acupoints ameliorates insulin resistance in type 2 diabetes mellitus by regulating the intestinal flora and gut barrier[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2022, 15: 2265-2276.
- [3] 孙戈, 董莉. 电针改善多囊卵巢综合征糖脂代谢紊乱作用机制研究进展[J]. 环球中医药, 2022, 15(4): 719-724.
- [4] LIU X X, ZHANG L Z, ZHANG H H, *et al.* Low-frequency electroacupuncture improves disordered hepatic energy metabolism in insulin-resistant Zucker diabetic fatty rats via the AMPK/mTORC1/p70S6K signaling pathway[J]. *Acupunct Med*, 2022, 40(4): 360-368.
- [5] PERRY R J, SAMUEL V T, PETERSEN K F, *et al.* The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2014, 510(7503): 84-91.
- [6] 刘彩玲, 华诗培, 喻松仁, 等. 中医药调控细胞自噬在防治常见代谢性疾病中的研究进展[J]. 江西中医药, 2021, 52(7): 76-80.
- [7] 黄莹, 张芳, 丁文军. 肝脏脂质代谢与自噬[J]. 中国科学院大学学报, 2016, 33(4): 570-575.
- [8] SINGH R, KAUSHIK S, WANG Y, *et al.* Autophagy regulates lipid metabolism[J]. *Nature*, 2009, 458(7242): 1131-1135.
- [9] SHI H, WANG Q, YANG L, *et al.* IMM-H007, a new therapeutic candidate for nonalcoholic fatty liver disease, improves hepatic steatosis in hamsters fed a high-fat diet[J]. *FEBS Open Bio*, 2017, 7(9): 1379-1391.
- [10] GAO D, MA L, XIE Y, *et al.* Electroacupuncture promotes autophagy by regulating the AKT/mTOR signaling pathway in temporal lobe epilepsy[J]. *Neurochem Res*, 2022, 47(8): 2396-2404.
- [11] HONG H, XU H X, MENG J Z, *et al.* Electroacupuncture altered expression of microRNAs in Stat5 knockout obese mice[J]. *Acupunct Med*, 2022, 40(3): 249-257.
- [12] ZECCHIN H G, PRIVIERO F B, SOUZA C T, *et al.* Defective insulin and acetylcholine induction of endothelial cell-nitric oxide synthase through insulin receptor substrate/Akt signaling pathway in aorta of obese rats[J]. *Diabetes*, 2007, 56(4): 1014-1024.
- [13] 郭义. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 414-417.
- [14] NI W, WANG P, CHEN H J, *et al.* Obesity complicated with insulin resistance treated with the electroacupuncture at the combination of back-shu and front-mu

- points[J]. *World J Acupuncture-Moxibustion*, 2022, 32(3):213-217.
- [15] ZHANG L, CHEN X, WANG H, *et al*. “Adjusting internal organs and dredging channel” electroacupuncture ameliorates insulin resistance in type 2 diabetes mellitus by regulating the intestinal flora and inhibiting inflammation[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2021, 14:2595-2607.
- [16] XU F, CHEN R, MA C, *et al*. Electroacupuncture improves insulin sensitivity in high-fat diet-induced insulin resistant rats by activating sirt1 and glut4 in quadriceps femoris[J]. *Acta Endocrinol (Buchar)*, 2020, 16(3):280-287.
- [17] PENG Y, GUO L, GU A, *et al*. Electroacupuncture alleviates polycystic ovary syndrome-like symptoms through improving insulin resistance, mitochondrial dysfunction, and endoplasmic reticulum stress via enhancing autophagy in rats[J]. *Mol Med*, 2020, 26(1):73.
- [18] 潘善余, 徐安姘, 徐浩娟. 胰岛素抵抗中医证治浅探[J]. *新中医*, 2019, 51(9):305-306.
- [19] 宋爱群, 张阳普, 姚敏, 等. “标本配穴”电针对胰岛素抵抗肥胖大鼠脑肠肽胆囊收缩素中枢敏感性的影响[J]. *中国针灸*, 2020, 40(9):969-975.
- [20] STOTT N L, MARINO J S. High fat rodent models of type 2 diabetes: from rodent to human[J]. *Nutrients*, 2020, 12(12):3650.
- [21] 杜立娟, 谈钰濛, 王凡, 等. 代谢综合征动物模型的研究进展[J]. *吉林中医药*, 2019, 39(8):1109-1111, 1116.
- [22] 庞雅芬, 黄明, 李琳, 等. 丹菱片降低 db/db 小鼠肝脏脂肪生成及炎症反应改善胰岛素抵抗的作用研究[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(12):3320-3327.
- [23] 聂绪强, 张丹丹, 张涵. 炎症、胰岛素抵抗与糖尿病的中药治疗[J]. *中国药理学杂志*, 2017, 52(1):1-7.
- [24] 卢威, 吴松, 李佳, 等. 电针通过调控肝脏 To11 样受体 4/核转录因子 κ B 炎症反应通路改善胰岛素抵抗肥胖的机制研究[J]. *针刺研究*, 2022, 47(6):504-509.
- [25] 王雅媛, 梁凤霞, 卢威, 等. 电针对肥胖胰岛素抵抗大鼠胰岛素敏感性、脂肪组织脂联素、抵抗素基因表达的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(9):1444-1450.
- [26] CHENG F, DUN Y, CHENG J, *et al*. Exercise activates autophagy and regulates endoplasmic reticulum stress in muscle of high-fat diet mice to alleviate insulin resistance[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 601:45-51.
- [27] KAKOTY V, K C S, DUBEY S K, *et al*. Epigenetic regulation and autophagy modulation debilitates insulin resistance associated Alzheimer’s disease condition in rats[J]. *Metab Brain Dis*, 2022, 37(4):927-944.
- [28] ZENG T, ZHOU J, HE L, *et al*. Blocking nuclear factor- κ B protects against diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0149677.
- [29] TAO Z, LIU L, ZHENG L D, *et al*. Autophagy in adipocyte differentiation[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1854:45-53.
- [30] 陆麒麟, 李佳钰, 蔡义思, 等. 当归拈痛汤对风湿热痹型佐剂性关节炎大鼠自噬蛋白 LC3, Beclin1, p62 表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(1):41-49.
- [31] 李平原. 胰腺癌中自噬相关蛋白 Beclin1、LC3 和 P62 的表达及临床意义[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2017, 17(19):50.
- [32] 赵曦, 董国福, 马蕾, 等. SDSL-EPR 技术检测 LC3B 蛋白功能结构域中特定位点的运动特性[J]. *军事医学*, 2019, 43(9):664-668.
- [33] 黄海, 陈丽, 武欢, 等. 电针对糖尿病肾病大鼠肾功能及肾脏自噬表达的影响[J]. *针刺研究*, 2022, 47(2):108-114.
- [34] 田洪昭, 尹洪娜, 马育轩, 等. 夹脊电针调节自噬流促进大鼠脊髓损伤修复[J]. *针灸临床杂志*, 2022, 38(5):47-52.
- [35] 黄小珍, 栗胜勇, 覃忠亮, 等. 电针对 CSR 大鼠神经细胞自噬相关因子 Beclin1 mRNA、LC3 mRNA 表达的影响[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(4):1012-1014.
- [36] 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.

收稿日期 2023-01-18