

基于 TNF- α /MAPK/apoB-48 通路研究首乌降脂汤对 高脂血症金黄地鼠血脂的影响

娄彬¹, 王云杉^{1,2}, 谷明林¹, 王大为^{1*}

(¹江苏省中医药研究院转化医学实验室, 南京 210028; ²中国药科大学中药学院中药制剂系 & 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009)

摘要 为探究首乌降脂汤抑制小肠分泌 apoB-48 治疗高脂血症的机制, 将 20 只金黄地鼠按体重随机分为空白组、模型组、非诺贝特治疗组和首乌降脂汤组。高脂饲料喂养 4 周建立高脂血症模型, 连续灌胃给药 4 周后, 微板法检测血脂指标高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC) 等的变化; 酶联免疫法检测血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、载脂蛋白 B-48 (apoB-48) 和游离脂肪酸 (FFA) 的水平; Western blot 检测小肠组织中丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 通路相关蛋白 p38、ERK、JNK 以及脂质代谢调节蛋白固醇原蛋白 (SREBP)、apoB-48 的表达。实验结果显示首乌降脂汤可有效降低高脂血症金黄地鼠血清中 LDL-C、TG、FFA 以及 TNF- α 和 apoB-48 的含量, 显著下调小肠组织中 JNK、p38、ERK、SREBP 以及 apoB-48 的蛋白表达水平。上述结果提示首乌降脂汤可能通过抑制 TNF- α /MAPK 信号通路下调 apoB-48 的表达, 发挥降血脂药效。

关键词 首乌降脂汤; 高脂血症; TNF- α ; apoB-48; MAPK 通路

中图分类号 R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2019)06-0278-06

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20190614

引用本文 娄彬, 王云杉, 谷明林, 等. 基于 TNF- α /MAPK/apoB-48 通路研究首乌降脂汤对高脂血症金黄地鼠血脂的影响[J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(6): 728-733.

Cite this article as: LOU Bin, WANG Yunshan, GU Minglin, et al. Effect of *Shouwu Jiangzhi* decoction on hyperlipidemia Golden Syrian hamsters based on TNF- α /MAPK/apoB-48 pathway[J]. *J China Pharm Univ*, 2019, 50(6): 728-733.

Effect of *Shouwu Jiangzhi* decoction on hyperlipidemia Golden Syrian hamsters based on TNF- α /MAPK/apoB-48 pathway

LOU Bin¹, WANG Yunshan^{1,2}, GU Minglin¹, WANG Dawei^{1*}

¹Laboratory of Translational Medicine, Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028; ²Department of TCMs Pharmaceuticals, School of TCM & State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract To investigate the mechanism of *Shouwu Jiangzhi* decoction in treatment of hyperlipidemia by suppress apoB-48 in small intestines, Golden Syrian hamsters were randomly divided into blank group, model group, fenofibrate treatment group and *Shouwu Jiangzhi* decoction treatment group based on weight. The hyperlipidemia models of golden Syrian hamsters were induced by high fat diet (HFD) treatment for 4 weeks, then administered orally with drugs for 4 weeks. The serum indexes of HDL-C, LDL-C, TG and TC were determined by microplate methods, ELISA kits were used to evaluate the contents of serum TNF- α , apoB-48 and FFA. The protein expression levels of p38, ERK, JNK, SREBP, TNF- α and apoB-48 in small intestines were determined by Western blots. The results showed that *Shouwu Jiangzhi* decoction can effectively increase the serum HDL-C level and reduce the serum level of TG, LDL-C, TNF- α and apoB-48 in HFD-induced hamsters. Furthermore, *Shouwu Jiangzhi* decoction can significantly downregulate the protein expressions of p38, JNK, ERK, SREBP, TNF- α and apoB-48

in small intestines. Results above indicate that *Shouwu Jiangzhi* decoction may downregulate the protein expression of apoB-48 to treat hyperlipidemia via partially downregulating TNF- α /MAPK signal pathway.

Key words *Shouwu Jiangzhi* decoction; hyperlipidemia; TNF- α ; apoB-48; MAPK pathway

This study was sponsored by Science and Technology Planning Project of Traditional Chinese Medicine of Jiangsu Province (No. YB2017028)

心血管疾病已经成为我国成年人死亡的主要原因^[1]。高脂血症是诱导心血管疾病的一个重要危险因素^[2]。其中,甘油三酯(TG)是血脂的重要组成部分,也是导致血脂紊乱的一个重要影响因素^[3]。大规模人群的流行病学和长达 30 年的前瞻性临床研究发现血中富含甘油三酯的脂蛋白(TRL)过高是导致心脑血管疾病的独立危险因素^[4-5]。

小肠合成的乳糜微粒(CM)是 TRL 的主要组成成分,当食物中脂质进入小肠黏膜上皮细胞后,与分泌的载脂蛋白 B48(apoB-48)在内质网结合,就形成了 CM^[6]。CM 进一步加工成熟后分泌至淋巴液,循环入血,增加血液中循环 TRL 的含量。当 apoB-48 分泌异常时,可通过增加血液中 CM 和 TRL 的含量,诱导血脂紊乱^[7]。因此调控 apoB-48 的表达对治疗高脂血症具有重要意义。研究发现,抑制 apoB-48 分泌能够降低 CM 形成,减少餐后 TRL 含量,改善血脂紊乱^[8]。Federico 等^[9]研究发现,肿瘤坏死因子(TNF- α)可通过激活 p38、ERK 通路,诱导 SREBP-1c 在肠道细胞中的活化,增加 apoB-48 的分泌,而抑制 p38 的激活,可显著降低 apoB-48 的分泌和 CM 的含量。临床上目前还缺少通过调控 apoB-48 从而治疗高脂血症的降脂药物。

首乌降脂汤的组方为临床经验方,作为医院制剂投入临床使用,并对高脂血症具有较好的治疗效果^[10],课题组前期预实验结果显示首乌降脂汤可显著降低肠细胞 TNF- α mRNA 的表达水平,并对 apoB-48 表达有显著的抑制作用。然而首乌降脂汤是否通过抑制炎症因子 TNF- α 的分泌,而减少 apoB-48 的分泌,改善高脂饮食诱导高脂血症的效果和机制还不明确。

因此,本实验使用高脂饮食诱导的金黄地鼠高脂血症模型,通过检测血脂指标评价首乌降脂汤的降脂药效;通过检测 TNF- α 的含量和丝裂原活化激酶(MAPK)通路相关通路蛋白、脂质代谢调节蛋白 SREBP 及 apoB-48 的表达变化,探讨首乌降脂汤的降脂机制,为首乌降脂汤的临床应用提供理论依据。

1 材 料

1.1 药品与试剂

非诺贝特片(法国利博福尼制药公司,商品名力平之);金黄地鼠 apoB-48 ELISA 检测试剂盒、金黄地鼠 TNF- α ELISA 检测试剂盒、金黄地鼠游离脂肪酸(FFA)检测试剂盒(江苏酶标生物科技有限公司);甘油三酯(TG)测定试剂盒、总胆固醇(TC)测定试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测定试剂盒、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)测定试剂盒、丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);p-ERK、p-p38、p-JNK 和 TNF- α 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司);GAPDH 抗体(英国 Abcam 公司)。

1.2 仪 器

全波长多功能酶标仪(美国 Bio-Tek 公司);超速控温离心机(美国 Beckman Coulter 公司);电子天平(美国 Mettler Tolerdo 公司)。

1.3 动 物

SPF 级叙利亚金黄地鼠,雌性,100 ~ 120 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号:SCXK(沪)2017-0005。饲养于江苏省中西医结合医院动物中心。饲养条件:动物处于温度 24 ~ 26 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 40% ~ 60% 环境中,12 h 光照和 12 h 黑暗交替,自由进食和饮水。

1.4 动物饲料

TP24200 高脂饲料(含有 10% 脂肪、0.8% 胆固醇、3% 蛋黄和 86.8% 基础饲料)和 LAD1002 标准饲料喂养动物。饲料均购买于南通特罗菲饲料科技有限公司。

1.5 药物的配制

以首乌降脂汤配方为基础,取制首乌 20 g,淫羊藿 20 g,生山楂 16 g,牛膝 16 g。地黄 20 g,药物加入 10 倍水浸泡 30 min 后,煎煮 45 min,滤出水提液后再加入 10 倍水煎煮 45 min。合并提取液,

浓缩至相对密度 1.2~1.3(50~60℃), 4℃保存。以人给药剂量按体表面积折算后给予金黄地鼠的剂量为 3.33 g/kg, 折算所得浸膏给药量为 2.91 g/kg。非诺贝特按体表面积折算后给与金黄地鼠的剂量为 10 mg/kg。药物用生理盐水配制成混悬液, 4℃保存备用。

2 方法

2.1 动物模型建立、分组与给药

适应性喂养 1 周后, 金黄地鼠按体重随机分为 4 组: 空白对照组、高脂模型组、非诺贝特治疗组 [10 mg/(kg·d)] 和首乌降脂汤治疗组 [2.91 g/(kg·d)], 每组 5 只。空白对照组给予普通饲料, 高脂模型组和治疗组均给予高脂饲料。高脂喂养 4 周后连续经口给药治疗 4 周, 空白组和高脂模型组给予同体积生理盐水, 给药期间高脂模型组和治疗组继续高脂饲料喂养。

2.2 实验指标检测

2.2.1 摄食量、体重记录 每天记录每只金黄地鼠的摄食量, 每周记录动物体重。

2.2.2 生物样品取材以及生化指标测定

造模 4 周后, 禁食 12 h, 水自由获取。给药结束后, 禁食 12 h, 不禁水, 腹主动脉取血, 血清获取和处理方法如娄东晓等^[11]所述, 即 3 000 r/min 离心 15 min, 获得血清。快速剥离小肠组织, 并采用生理盐水清洗, 置于 -80℃ 保存。按照试剂盒说明测定 TC、TG、LDL-C、HDL-C、AST、ALT 等指标的含量。

2.2.3 酶联免疫法检测指标 采用 ELISA 试剂盒检测载血清中脂蛋白 B-48 (apoB-48)、游离脂肪酸 (FFA)、TNF- α 含量。

2.2.4 小肠组织取材以及 Western blot 测定 称取小肠组织 0.1 g, 用组织匀浆机研磨匀浆, 4℃离心后取组织上清液, 蛋白裂解液提取蛋白, BSA 蛋白定量法测定总蛋白。采用 SDS-PAGE 电泳后转膜。完成后膜用 5% BSA 封闭 1 h, 一抗 4℃孵育过夜。TBST 清洗 3 次, 每次 5 min。二抗孵育 1 h, TBST 清洗 3 次, 每次 5 min。加入碱性磷酸酯酶显色试剂避光显色 3 min。结合所得条带分析 apoB-48、ERK、p38、SREBP 等蛋白的表达情况。

2.3 数据处理与指标分析

使用统计软件 Graphpad Prism 7.0 统计数据。实验结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异使用单因素方

差 ANOVA 法统计, $P < 0.05$ 则视为具有统计学意义。

3 结果

3.1 首乌降脂汤对高血脂模型金黄地鼠的进食量和体重的影响

实验结果发现, 高脂饮食诱导组与空白组相比, 体重在高脂喂养 2 周后增加, 有显著性差异 ($P < 0.01$); 非诺贝特和首乌降脂汤治疗组在治疗 3 周后均能显著抑制高脂饮食诱导的体重增加 ($P < 0.01$) (图 1-B、1-D、1-E)。

各组每只鼠每天摄食量无显著性差异, 说明各组之间体重差异与摄食量不同无关 (图 1-C)。综上, 高脂饲料喂养可显著增加金黄地鼠的体重, 而非诺贝特和首乌降脂片治疗都可以显著改善体重的增加, 这一变化与动物摄食量无关。

3.2 首乌降脂汤对高脂饮食诱导的肥胖金黄地鼠血脂指标的影响

为了探究首乌降脂汤对金黄地鼠高脂血症模型的治疗效果, 本研究检测各组血清中的血脂相关指标并进行对比。结果显示, 阳性药非诺贝特治疗组和首乌降脂汤治疗组与高脂组相比, TC 有一定下降的趋势, 但无显著性差异 (图 2-A)。TG ($P < 0.01$)、LDL-C ($P < 0.05$) 与模型组相比显著下降 (图 2-B、2-D)。与高脂模型组相比, 非诺贝特和首乌降脂汤治疗组 HDL-C 显著升高 ($P < 0.01$) (图 2-C)。非诺贝特治疗组 AST、ALT 与模型组相比均无显著变化, 首乌降脂汤治疗组 AST、ALT 显著降低 ($P < 0.01$) (图 2-E、2-F)。综上, 首乌降脂汤治疗能够显著改善高脂饲料诱导的 TG 升高, HDL-C 降低。并且对高脂饲料造成的肝脏损伤具有一定的修复作用。

3.3 首乌降脂汤对高脂饮食诱导的肥胖金黄地鼠血清中 TNF- α 、FFA、apoB-48 的影响

为了探究首乌降脂汤的降脂机制, 本研究测定高脂饮食诱导的金黄地鼠血清中 FFA、TNF- α 以及 apoB-48 的含量。结果 (图 3) 显示, 非诺贝特治疗组 ($P < 0.05$) 和首乌降脂汤治疗组 ($P < 0.01$) 均能显著降低高脂饮食诱导的血清 FFA 含量增加。而非诺贝特治疗对高脂饲料诱导的 TNF- α 和 apoB-48 显著升高具有一定的降低趋势, 但不具有显著性差异。首乌降脂汤则可以显著降低血清

TNF- α 和 apoB-48 含量($P < 0.01$)。上述实验结果 apoB-48 和 FFA 的表达。
说明首乌降脂汤可通过降低炎症因子 TNF- α , 下调

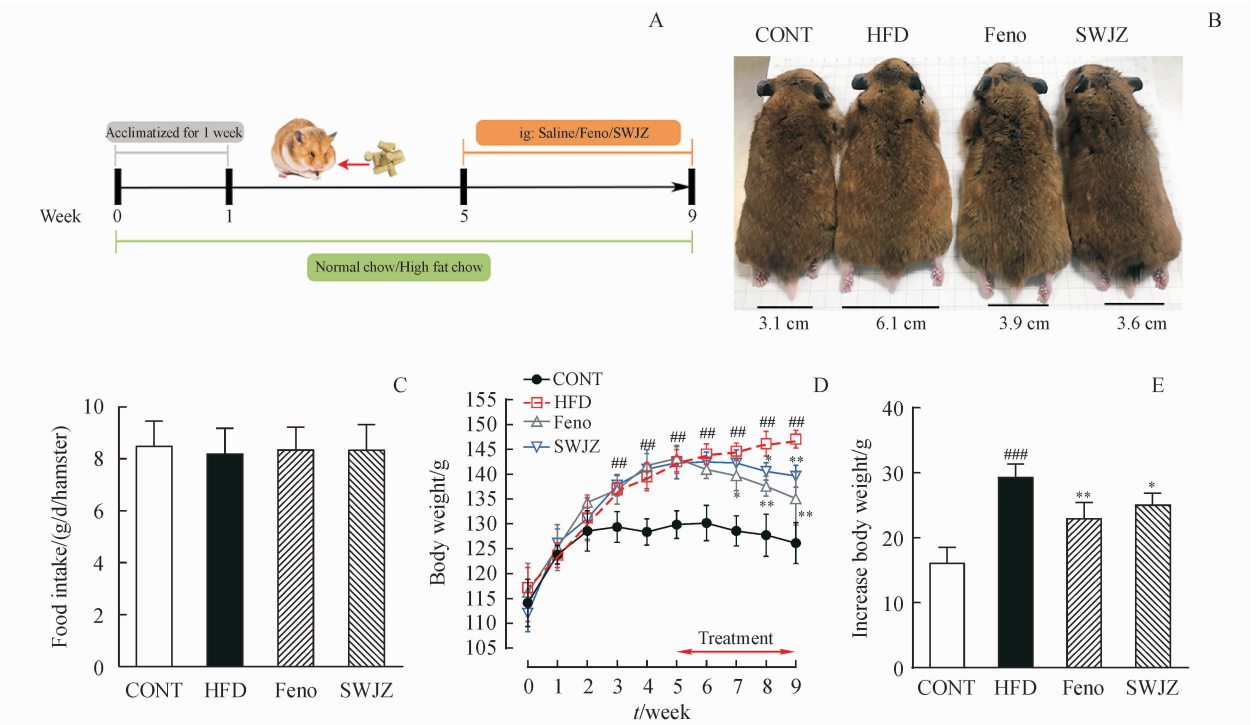


Figure 1 Effect of Shouwu Jiangzhi (SWJZ) on body weight and food intake of high fat diet (HFD) reduced hamsters
A: Flow design of the experiment; B: Posture of Hamsters from different groups; C-D: Food intake and body weight of hamsters from different groups; E: Increase of body weight of the different groups
CONT: Control group; HFD: Model group (High fat diet); Feno: Fenobrate; SWJZ: Shouwu Jiangzhi decoction
$P < 0.01$ vs CONT group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs HFD group

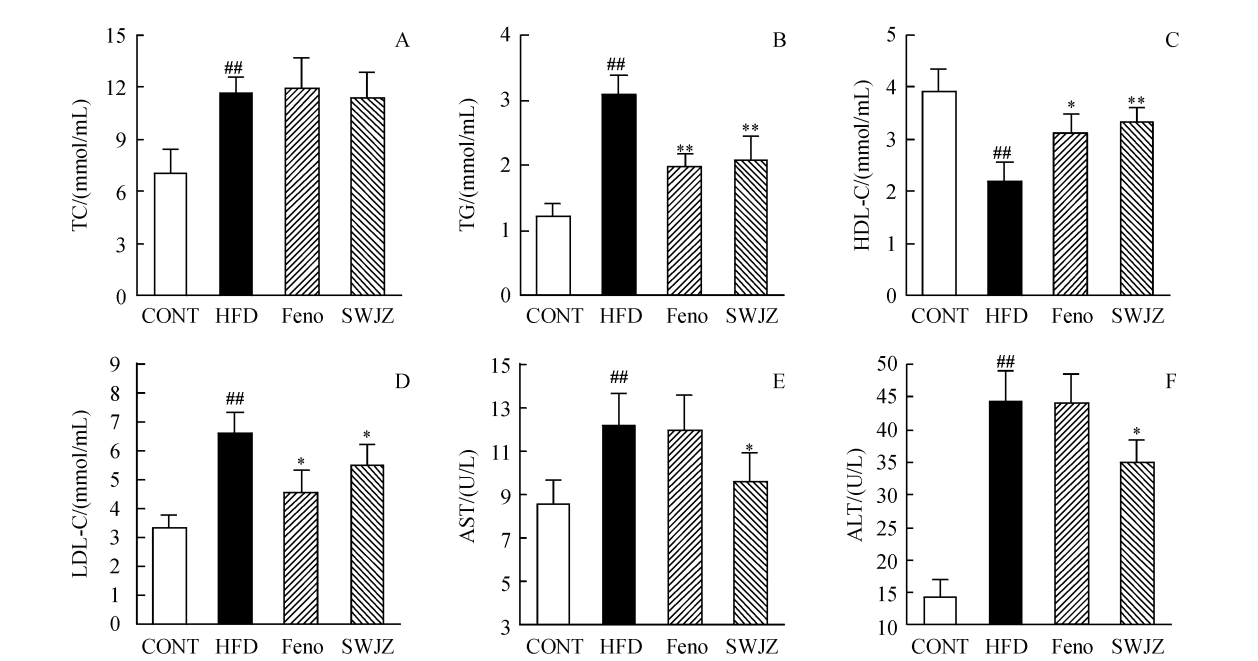


Figure 2 Effects of SWJZ on serum biochemical index of HFD-induced hamsters
A-F: Levels of TC, TG, HDL-C, LDL-C, AST and ALT in the serum of HFD-induced hamsters (TC: Total cholesterol; TG: Triglyceride; HDL-C: High density liprotein cholesterol; LDL-C: Low density liprotein cholesterol; AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase)
$P < 0.01$ vs CONT group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs HFD group

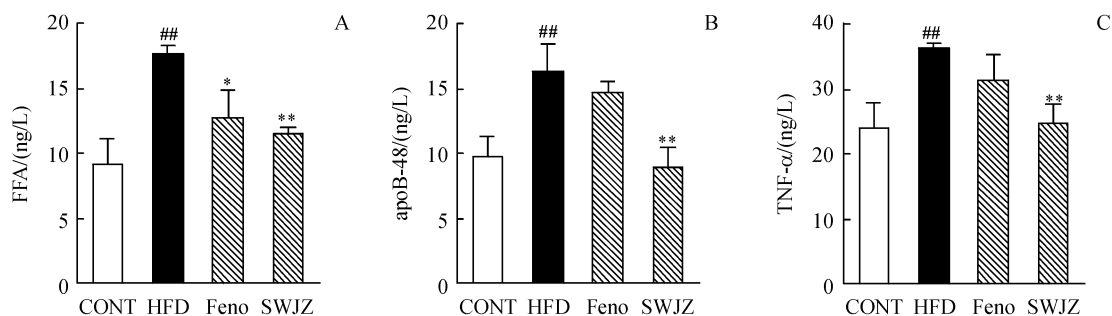


Figure 3 Effects of SWJZ on serum apoB-48, free fatty acid (FFA) and TNF-α

A-C: Level of FFA, apoB-48 and TNF-α in the serum of HFD-induced hamsters

$P < 0.01$ vs CONT group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs HFD group

3.4 首乌降脂汤可通过 MAPK 通路降低肥胖金黄色地鼠的 apoB-48

为了进一步探究首乌降脂片降低 apoB-48 表达的确切药理机制,本研究采用 Western blot 方法检测了 MAPK 通路相关蛋白(p38、ERK、JNK)磷酸化水平与脂质调节相关蛋白 SREBP 及其下游蛋白 apoB-48 的表达情况。结果(图 4)显示,与正常组相比,高脂模型组的 apoB-48、p-p38、p-ERK、JNK 和 SREBP 均升高,而首乌降脂汤治疗后,这些蛋白的表达降低。以上结果显示首乌降脂汤可能是通过 TNF-α/MAPK 通路下调 apoB-48 表达,减少小肠 CM 的产生。首乌降脂汤通过 apoB-48 调控金黄色地鼠小肠脂质代谢的可能机制如图 5 所示。

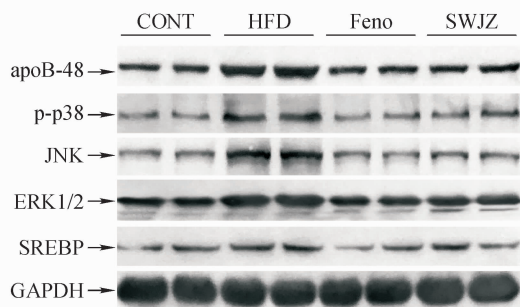


Figure 4 Effects of SWJZ on the protein expression in small intestine of HFD-induced hamsters

4 讨论

本研究探究了首乌降脂汤是否通过抑制 TNF-α/MAPK 通路,下调 apoB-48 的表达,改善高脂血症的问题。实验结果显示,首乌降脂汤能够显著降低金黄色地鼠血清中 TNF-α、apoB-48 和 FFA 的含量,表明首乌降脂汤能够通过抑制 TNF-α 的表达从而降低血清 apoB-48 的含量;首乌降脂汤还能够

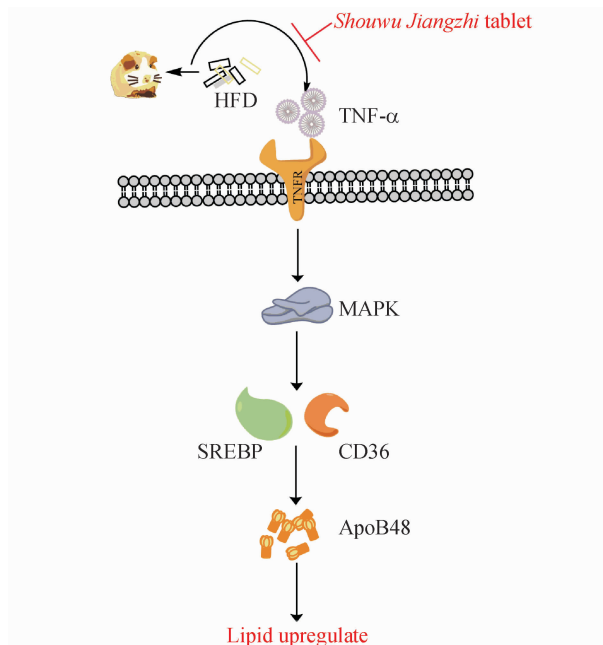


Figure 5 Diagram of the mechanism of SWJZ treatment on HFD-induced hamsters

抑制小肠组织中 MAPK 通路相关蛋白(p38、ERK、JNK)的磷酸化,下调 SREBP 的蛋白表达,减少小肠中 apoB-48 的含量。上述结果显示,首乌降脂汤的降脂机制可能与抑制 TNF-α/MAPK 通路,减少 apoB-48 的表达有关。有趣的是,实验结果显示,首乌降脂汤治疗组的肝脏指标(ALT、AST)明显优于非诺贝特治疗组和高脂模型组,提示首乌降脂汤在降脂的同时能够改善高脂饲料引起的肝功能损伤。

TNF-α 是一种脂质稳态调节因子,可上调 ERK/TNF-α 炎症通路可诱导固醇元件调节蛋白-1c (SREBP-1c)在肠细胞中的活化^[12]。这提示 SREBP 可能是 MAPK 脂质调控通路的下游蛋白。同时, SREBP 对 apoB-48 亦有一定的调节作用^[11]。本次实验中,首乌降脂汤对金黄色地鼠的 TNF-α、MAPK 通

路相关蛋白、SREBP 以及 apoB-48 均有降低作用,因此,推测其能够通过抑制 TNF- α /MAPK 通路下调 SREBP 的表达,减少血液和小肠组织中 apoB-48 含量,从而达到治疗高脂血症的效果。

目前 apoB-48 作为降脂治疗的新靶点,已有研究发现 apoB-48 的单克隆抗体可显著抑制 apoB-48 的活性,发挥降脂作用^[13]。但由于单克隆抗体价格昂贵、患者依从性差等特点,限制了其临床应用。首乌降脂汤不仅克服了单抗费用高的缺点,同时,首乌降脂汤中所用到的药材经现代药理学研究证明都具有较好的降脂或预防心血管疾病的活性^[14-19],证明了首乌降脂汤配伍和用药的科学性和合理性,体现出较好的临床应用前景。

本研究采用降脂效果确切的首乌降脂汤,创新性地提出通过抑制 apoB-48(小肠吸收脂质必需的载脂蛋白)的分泌,进而降低血中 TRL 含量,发挥降脂作用的新思路。研究中将 apoB-48 与 TNF- α 和 MAPK 通路联系起来,探索首乌降脂汤的降脂机制,为以后降脂药物的研发奠定理论基础。但本次研究缺乏对首乌降脂片物质基础的研究;同时机制研究表浅,可在后续研究中进一步补充,如加入 MAPK 通路抑制剂或在基因敲除小鼠水平上进行反向验证,以及临床研究的深入验证。

参 考 文 献

- [1] Heine RJ. The role of postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia in CVD risk[J]. *Curr Diab Rep*, 2006, **6**(1): 1-2.
- [2] Hu DY. New guidelines and evidence for prevention and treatment of dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease in China[J]. *Chronic Dis Transl Med*, 2017, **3**(2): 73-74.
- [3] Huang YX, Gao L, Xie XP, et al. Epidemiology of dyslipidemia in Chinese adults: meta-analysis of prevalence, awareness, treatment, and control[J]. *Popul Health Metr*, 2014, **12**(1): 28.
- [4] Lindman AS, Veierød MB, Tverdal A, et al. Nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular death in men and women from the norwegian counties study[J]. *Eur J Epidemiol*, 2010, **25**(11): 789-798.
- [5] Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, et al. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women[J]. *JAMA*, 2007, **298**(3): 299.
- [6] Nakajima K, Nagamine T, Fujita MQ, et al. Apolipoprotein B-48: a unique marker of chylomicron metabolism[J]. *Adv Clin Chem*, 2014, **64**: 117-177.
- [7] Qin BL, Qiu W, Avramoglu RK, et al. Tumor necrosis factor- α induces intestinal insulin resistance and stimulates the overproduction of intestinal apolipoprotein B48-containing lipoproteins[J]. *Diabetes*, 2007, **56**(2): 450-461.
- [8] van Breukelen-van der Stoep D, van Zeben D, de Vries M, et al. Plasma apolipoprotein B48 levels in patients with rheumatoid arthritis: evaluating novel cardiovascular risk factors[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, **67**: 2.
- [9] Federico LM, Naples M, Taylor D, et al. Intestinal insulin resistance and aberrant production of apolipoprotein B48 lipoproteins in an animal model of insulin resistance and metabolic dyslipidemia: evidence for activation of protein tyrosine phosphatase-1B, extracellular signal-related kinase, and sterol regulatory element-binding protein-1c in the fructose-fed hamster intestine[J]. *Diabetes*, 2006, **55**(5): 1316-1326.
- [10] Lou B, Wang DC, Xu CB, et al. Clinical efficacy of Shouwu Jiangzhi tablets in treating hyperlipemia[J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*(中华中医药学刊), 2007, **25**(2): 315-316.
- [11] Lou DX, Yan D, Guo M, et al. Antipyretic effect of isodon eriocalyx extracts on yeast-induced fever in rats[J]. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报), 2019, **50**(1): 87-92.
- [12] Eberlé D, Hegarty B, Bossard P, et al. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis[J]. *Biochimie*, 2004, **86**(11): 839-848.
- [13] Yoshimura N, Kinoshita M, Teramoto T. Isolation and characterization of apolipoprotein B48-containing lipoproteins with a monoclonal antibody against apolipoprotein B48[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2009, **16**(6): 740-747.
- [14] Choi RY, Lee HI, Ham JR, et al. Heshouwu (*Polygonum multiflorum* Thunb.) ethanol extract suppresses pre-adipocytes differentiation in 3T3-L1 cells and adiposity in obese mice[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2018, **106**: 355-362.
- [15] Zhu HF, Wang Y, Liu ZQ, et al. Antidiabetic and antioxidant effects of catalpol extracted from *Rehmannia glutinosa* (Di Huang) on rat diabetes induced by streptozotocin and high-fat, high-sugar feed[J]. *Chin Med*, 2016, **11**: 25.
- [16] Kwok CY, Wong CNY, Yau MYC, et al. Consumption of dried fruit of *Crataegus pinnatifida* (hawthorn) suppresses high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats[J]. *J Funct Foods*, 2010, **2**(3): 179-186.
- [17] Wang T, An YT, Zhao CF, et al. Regulation effects of *Crataegus pinnatifida* leaf on glucose and lipids metabolism[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, **59**(9): 4987-4994.
- [18] Shui YM, Lv GY, Shan LT, et al. Epimedin C promotes vascularization during BMP2-induced osteogenesis and tumor-associated angiogenesis[J]. *Am J Chin Med*, 2017, **45**(5): 1093-1111.
- [19] Li XY, Peng BJ, Pan YB, et al. Icaritin stimulates osteogenic differentiation and suppresses adipogenic differentiation of rBMSCs via estrogen receptor signaling[J]. *Mol Med Rep*, 2018, **18**(3): 3483-3489.