

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.04.015

电针对肥胖大鼠脂肪组织白细胞介素 6 基因启动子区 H3K9 乙酰化水平的影响

黄琪^{1,2}, 梁凤霞^{*}, 陈瑞³, 彭苗¹, 李伦¹, 李金骁³

1. 湖北中医药大学针灸骨伤学院, 湖北省武汉市武昌区昙华林 188 号, 430014; 2. 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院; 3. 华中科技大学同济医学院附属协和医院

摘要 目的 探讨电针治疗肥胖的可能作用机制。方法 将 70 只大鼠随机选 10 只作为正常组, 给予普通饲料喂养, 其余给予高脂饲料喂养 8 周建立肥胖模型。将达到肥胖标准的 30 只大鼠随机分为模型组、电针组、假电针组, 每组 10 只。电针组取“足三里”“中脘”“关元”“丰隆”穴, 连接电针治疗, 每周 3 次, 共治疗 8 周。假电针组取电针组穴位旁约 5mm 处浅刺并夹持电极, 不予通电。正常组和模型组于相同时间内给予抓取固定。记录各组大鼠干预第 0、2、4、6、8 周时的体重, 计算 Lee's 指数; 实验结束后检测脂肪组织中白细胞介素 6 (IL-6) 和沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 蛋白及 mRNA 表达, 并检验 IL-6 基因启动子区 H3K9 乙酰化 (H3K9ac) 程度以及 SIRT1 和 H3K9ac 的共表达情况。结果 与正常组比较, 其余各组大鼠第 0、2、4、6、8 周 Lee's 指数均显著升高, 第 8 周模型组大鼠脂肪组织中 SIRT1 蛋白及 mRNA 表达降低, IL-6 蛋白及 mRNA 表达升高, IL-6 基因启动子区 H3K9ac 水平升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 电针组第 6、8 周大鼠体重和 Lee's 指数均明显下降, 脂肪组织中 SIRT1 蛋白及 mRNA 表达升高, IL-6 蛋白及 mRNA 表达降低, IL-6 基因启动子区 H3K9ac 水平下降 ($P < 0.05$), 而假电针组与模型组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组 SIRT1 和 H3K9ac 在脂肪组织细胞核中均存在共表达。结论 电针能够有效降低肥胖大鼠体重及 Lee's 指数, 其机制可能与激活脂肪组织中 SIRT1 表达, 降低 IL-6 基因启动子区 H3K9 乙酰化程度有关。

关键词 肥胖; 电针; 脂肪组织; 白细胞介素 6; 沉默信息调节因子 1; 组蛋白乙酰化

肥胖是由于体内多余的脂肪堆积引起能量代谢紊乱, 并对健康产生负面影响。据统计, 2015 年在 195 个国家中有 6 亿成人 (12%) 和 1 亿儿童被诊断为肥胖^[1]。近年来, 脂肪组织被公认为是一种内分泌器官, 它不仅能沉积脂肪, 也能分泌许多脂肪细胞因子, 如瘦素、抵抗素、白细胞介素 6 (IL-6) 等^[2]。脂肪细胞分泌的这些细胞因子中, 如抵抗素、视黄醇结合蛋白 4 等会损害胰岛素的敏感性, 引起胰岛素抵抗^[3]。因此, 控制肥胖的慢性炎症状态, 是改善肥胖引起胰岛素抵抗并向其他代谢相关性疾病转变的关键所在。有研究显示, 电针能够抑制炎症因子, 对多种慢性炎症性疾病具有确切疗效^[4-5], 且针灸中脘、足三里、丰隆、关元等穴位可以调节肥胖患者的脂质代谢, 减轻体重并

改善胰岛素抵抗^[6-8]。现代医学通过调整机体异常的表现遗传学状态来治疗肥胖性疾病已成为引人关注的重点领域^[9]。沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 是一种Ⅲ类组蛋白去乙酰化酶, 可催化组蛋白赖氨酸位点 (如 H3K9 等) 去乙酰化, 恢复染色质的致密状态, 下调众多炎症相关基因的表达^[10-11]。本实验选用肥胖大鼠为模型, 深入研究电针对肥胖慢性炎症状态下组蛋白乙酰化修饰的影响, 以期针灸防治肥胖提供有效的理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 Wistar 雄性大鼠 70 只, 8 周龄, 体重 200 ~ 250 g, 购自辽宁长生生物技术有限公司, 实验动物合格证号: 211002300028524, 饲养于湖北中医药大学 SPF 级动物房, 动物设施许可证号: SYXK (鄂) 2012-0067。

基金项目: 国家自然科学基金 (81574065, 81774420)

* 通讯作者: fxliang5@hotmail.com, (027) 68899656

1.2 主要试剂

脂肪组织蛋白提取试剂盒 (贝博生物科技有限公司, 货号: BB-312262); 抗 SIRT1 抗体 (货号: ab110304)、抗 H3K9 乙酰化 (H3K9ac) 抗体 (货号: ab10812), Abcam 公司; β -actin 抗体 (货号: 20536-1-AP)、抗 IL-6 抗体 (货号: 21865-1-AP)、羊抗兔 IgG (货号: SA00001-2), Proteintech 公司; 微量 RNA 提取试剂盒 (Qiagen 公司, 货号: 74104); RNA 逆转录试剂盒 (货号: 740900)、SYBR Green Realtime-PCR Master Mix (货号: QRT-201), TOYOBO 公司; 荧光标记 FITC 羊抗小鼠 IgG (货号: BA1101)、荧光标记 Cy3 羊抗兔 IgG (货号: BA1032), 武汉博士德生物工程有限公司; DNA 纯化试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 货号: D1300)。

1.3 主要仪器

一次性无菌针灸针 (批号 212181124, 无锡佳健医疗股份有限公司); 电针治疗仪 (北京华威科技有限公司, HANS LH202H 型); 精密电子秤 (上海志荣电子科技有限公司, SF-400A 型); 卷尺 (上海得力文具有限公司, DL9005B 型); 电子天平 (上海瑶新电子科技有限公司, LQ-A6002 型); 台式冷冻离心机 (美国 Beckman Coulter 公司, Microfuge 22R 型); 酶标仪 (上海科华实验系统有限公司, ST-360 型); 小型 Western 电泳仪系统、凝胶扫描成像系统 (ChemiDoc™ XRS + 型)、实时荧光定量 PCR 仪 (CFX96 型), 美国 Bio-Rad 公司; 核酸测定仪 (德国 IMPLIN 公司, NanoPhotometer NP80 型); 普通 PCR 循环仪 (西安天隆科技有限公司, TL071206167 型); 荧光倒置显微镜 (ZEISS 公司, SCAN IM 130x100-2mm 型); 细胞超声破碎机 (比利时 Diagenode 公司, 1624-33 型); 核酸电泳机 (北京君意东方电泳设备有限公司, JY600C 型); Q-bit (美国 Invitrogen 公司, Q33216 型)。

1.4 分组及造模

大鼠适应性饲养 1 周后采用随机数字表选取 10 只予基础饲料喂养作为正常组。其余大鼠给予高脂饲料 (5.4kcal/g, 含 38.5% 碳水化合物、15% 蛋白质、46.5% 脂肪, 由武汉春龙实验动物经营部提供) 喂养 8 周后, 记录大鼠的体重, 以大鼠体重高于普通饲料喂养大鼠体重平均值的 20% 以上作为肥胖的评价标准^[12]。将达到肥胖标准的大鼠 30 只采用随机数字表分为模型组、电针组、

假电针组, 每组 10 只。

1.5 干预方法

电针组大鼠取穴 “足三里” “丰隆” “中脘” “关元”, 穴位定位参考《大鼠穴位图谱的研制》^[13]。采用 0.2 mm × 13.0 mm 一次性无菌针灸针, “足三里” 和 “丰隆” 直刺 3 ~ 5 mm, “关元” 向剑突方向斜刺 3 ~ 5 mm, “中脘” 向耻骨联合方向斜刺 3 ~ 5 mm。连接电针治疗仪, 2 Hz、1 mA, 连续波, 15 min。同侧 “足三里” 和 “丰隆” 连接同一对输出电极, “关元” 和 “中脘” 连接另一对输出电极。每次取单侧 “足三里” 及 “丰隆”, 两侧交替进行。假电针干预: 取电针组穴位旁约 5 mm 处浅刺并夹持电极, 不予通电, 其余同电针组。正常组和模型组于相同时间内给予抓取固定。所有干预每周 3 次, 共 8 周。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 大鼠体重、Lee's 指数 于干预前 (0 周) 及干预后第 2、4、6、8 周分别测量大鼠的体重、肛鼻长, 计算 Lee's 指数。Lee's 指数 = (体重 × 1000) × 1/3 ÷ 肛鼻长。

1.6.2 脂肪组织 SIRT1、IL-6 蛋白表达 采用随机数字表法每组选取 8 只大鼠, 采用 Western blot 法检测各组大鼠脂肪组织 SIRT1、IL-6 蛋白表达。利用脂肪组织提取试剂盒提取脂肪组织总蛋白, BCA 法检测蛋白浓度, 以 β -actin 为内参, 配置 SDS-PAGE 后进行电泳, 半干转膜, 封闭, 孵育一抗过夜, 孵育二抗, 显影。

1.6.3 脂肪组织 SIRT1、IL-6 mRNA 表达 采用实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 法检测, 利用微量 RNA 提取试剂盒提取 RNA, 利用核酸测定仪测定 RNA 浓度, 然后进行热变性、逆转录, 最后利用实时荧光定量 PCR 仪进行扩增。扩增条件: 95℃ 预变性 1 min, 然后 95℃ 15 s, 58℃ 15 s, 72℃ 45 s, 循环 40 次。引物由武汉擎科生物科技有限公司设计, 引物序列如下: SIRT1: 上游 5'-TGCCATCATGAAGCCAGAGA-3', 下游 5'-CATCGCAGTCTC-CAAGAAGC-3', 产物长度 239 bp; IL-6: 上游 5'-CCACCCACAACAGACCAGTA-3', 下游 5'-ACAGTG-CATCATCGCTGTTC-3', 产物长度 135bp; β -actin: 上游 5'-CTGAACCCTAAGGCCAACC-3', 下游 5'-GTACGACCAGAGGCATACAGG-3', 产物长度 116bp。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析数据。

1.6.4 脂肪组织 IL-6 启动子区 H3K9ac 水平 采用染色质免疫共沉淀法 (CHIP) 检测, 通过甲醛

交联整个组织,使组织细胞内的 DNA 和蛋白质交联在一起,通过超声波打断,将联合了蛋白质的 DNA 切为一定长度的小片段,然后利用 H3K9ac CHIP 级别抗体将带有 DNA 片段沉淀下来,洗脱蛋白并纯化 DNA,最后用 PCR 扩增方法检测所沉淀的 DNA 样本。

1.6.5 脂肪组织 SIRT1 与 H3K9ac 的共表达情况

采用随机数字表法每组选取 5 只大鼠采用免疫荧光双标法检测 SIRT1 和 H3K9ac 在脂肪组织中的共表达。脂肪组织经过脱水、透明、浸蜡包埋、切片烤片后制成石蜡切片。石蜡切片再经过脱蜡、微波抗原修复、血清封闭数一抗过夜、加荧光二抗、血清封闭数第二抗一抗过夜、加第二种荧光二抗、复染核、封片,最后利用倒置荧光显微镜采集图像。

1.7 统计学方法

使用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,符合正态分布方差齐性的组间比较采用单因素方差分析,用 LSD 法进行两两比较。不符合正态分布和方差齐性的组间比较采用秩和检验,用 Kruskal-Wallis 法进行两两比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间体重及 Lee's 指数比较

表 1、表 2 示,与正常组比较,其余各组大鼠第 0、2、4、6、8 周 Lee's 指数均显著升高 ($P < 0.05$);除电针组第 8 周大鼠体重与正常组差异无统计学意义外 ($P > 0.05$),其余各组大鼠体重亦高于正常组 ($P < 0.05$);与模型组比较,电针组第 6、8 周大鼠体重和 Lee's 指数均明显下降 ($P < 0.05$),而假电针组与模型组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠不同时间体重比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	第 0 周	第 2 周	第 4 周	第 6 周	第 8 周
正常组	10	400.4 $\pm$ 15.3	419.4 $\pm$ 21.6	433.0 $\pm$ 19.4	449.2 $\pm$ 18.8	463.3 $\pm$ 22.3
模型组	10	522.2 $\pm$ 25.4*	537.5 $\pm$ 24.3*	556.1 $\pm$ 22.6*	579.1 $\pm$ 25.6*	607.2 $\pm$ 31.6*
电针组	10	521.8 $\pm$ 24.4*	532.7 $\pm$ 21.0*	535.8 $\pm$ 23.7*	528.1 $\pm$ 24.0* Δ	522.4 $\pm$ 25.5 Δ
假电针组	10	517.2 $\pm$ 27.9*	537.0 $\pm$ 28.6*	553.3 $\pm$ 19.7*	575.1 $\pm$ 15.5*	596.2 $\pm$ 17.5*

注:与正常组同时时间比较,* $P < 0.05$;与模型组同时时间比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 各组大鼠不同时间 Lee's 指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	第 0 周	第 2 周	第 4 周	第 6 周	第 8 周
正常组	10	2.90 $\pm$ 0.10	2.94 $\pm$ 0.11	2.93 $\pm$ 0.11	2.98 $\pm$ 0.11	2.97 $\pm$ 0.11
模型组	10	3.19 $\pm$ 0.08*	3.22 $\pm$ 0.07*	3.23 $\pm$ 0.11*	3.26 $\pm$ 0.10*	3.29 $\pm$ 0.10*
电针组	10	3.11 $\pm$ 0.08*	3.20 $\pm$ 0.10*	3.18 $\pm$ 0.08*	3.16 $\pm$ 0.07* Δ	3.13 $\pm$ 0.05* Δ
假电针组	10	3.15 $\pm$ 0.09*	3.19 $\pm$ 0.09*	3.25 $\pm$ 0.11*	3.25 $\pm$ 0.09*	3.25 $\pm$ 0.09*

注:与正常组同时时间比较,* $P < 0.05$;与模型组同时时间比较, $\Delta P < 0.05$

义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠脂肪组织中 SIRT1、IL-6 蛋白表达比较

表 3 示,与正常组比较,模型组大鼠脂肪组织中 SIRT1 蛋白表达降低,IL-6 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较,电针组 SIRT1 蛋白表达升高,IL-6 蛋白表达降低 ($P < 0.05$),而假电针组与模型组之间各指标比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 各组大鼠脂肪组织中 SIRT1、IL-6 蛋白表达比较 ($1/\beta$ -actin, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	SIRT1	IL-6
正常组	8	0.76 $\pm$ 0.16	0.52 $\pm$ 0.05
模型组	8	0.16 $\pm$ 0.12*	1.31 $\pm$ 0.30*
电针组	8	0.65 $\pm$ 0.09 Δ	0.38 $\pm$ 0.08 Δ
假电针组	8	0.11 $\pm$ 0.07	1.03 $\pm$ 0.24

注:SIRT1,沉默信息调节因子 1;IL-6,白细胞介素 6;与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

2.3 各组大鼠脂肪组织中 SIRT1、IL-6 mRNA 表达比较

表 4 示,与正常组比较,模型组大鼠脂肪组织中 SIRT1 mRNA 表达降低,IL-6 mRNA 表达升高

表 4 各组大鼠脂肪组织中 SIRT1、IL-6 mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	SIRT1	IL-6
正常组	8	1	1
模型组	8	0.42 $\pm$ 0.11*	2.34 $\pm$ 0.71*
电针组	8	1.50 $\pm$ 0.36 Δ	0.88 $\pm$ 0.31 Δ
假电针组	8	0.65 $\pm$ 0.51	1.93 $\pm$ 0.61

注:SIRT1,沉默信息调节因子 1;IL-6,白细胞介素 6;与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

($P < 0.05$)。与模型组比较,电针组 SIRT1 mRNA 表达升高,IL-6 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$),而假电针组与模型组之间各指标比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 各组大鼠脂肪组织中 IL-6 基因启动子区 H3K9ac 水平比较

表 5 示,与正常组比较,模型组大鼠脂肪组织中 IL-6 基因启动子区 H3K9ac 丰度值明显升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,电针组 IL-6 基因启动子区的 H3K9ac 丰度值显著下降 ($P < 0.05$),而假电针组与模型组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 5 各组大鼠脂肪组织中 IL-6 基因启动子区 H3K9ac 水平比较 (丰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	H3K9ac
正常组	5	220.2 ± 38.0
模型组	5	493.0 ± 120.7*
电针组	5	226.3 ± 119.4 [△]
假电针组	5	464.3 ± 58.5

注: IL-6, 白细胞介素 6; H3K9ac, H3K9 乙酰化; 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

2.5 各组大鼠脂肪组织 SIRT1 和 H3K9ac 共表达情况

从 400 倍荧光显微镜中可见,各组 SIRT1 与 H3K9ac 在脂肪细胞核中均存在共表达。

3 讨论

中医学认为,饮食不节是引起肥胖最主要的原因。其病位在脾,与肾虚关系密切。长期饮食不节,可损伤脾胃,导致脾虚不运,脾病及肾,引起肾阳虚衰,则水液不能被蒸腾气化,引起水湿内停,形成肥胖。因此,本研究中采用高脂饮食进行肥胖的诱导,更贴近临床。由于本病本虚标实的特点,治疗应以补虚泻实为原则,当以健运脾胃、益气补肾、祛湿化痰的配穴为主。选择足三里配关元来益精补气、扶助先天之本,也能调理脾胃,生化气血,固护后天之本。并选择中脘配丰隆以和胃健脾、豁痰除湿。本研究结果显示,电针组干预 6 周后可以降低肥胖大鼠体重和 Lee's 指数,而假电针组与模型组无差异,说明电针“足三里”“丰隆”“中脘”“关元”能有效缓解肥胖大鼠肥胖状态,而非经非穴假电针无此作用。

脂肪组织作为内分泌器官会分泌多种炎症因子^[2]。有研究报道,IL-6 是肥胖患者慢性炎症状态中最重要的细胞因子之一^[14],它可以直接影响脂质代谢并激活通路以促进人体脂肪分解,增加游离

脂肪酸浓度并降低脂联素的表达和分泌^[15]。SIRT1 能使组蛋白和非组蛋白去乙酰化,凝聚染色质并减少基因转录,SIRT1 已被确定可以抑制多种组织和巨噬细胞的炎症^[16-17]。本课题组在前期的研究^[18]中也发现,电针激活 SIRT1 的表达能够显著降低糖尿病大鼠下丘脑弓状核中炎症因子的表达。目前研究^[19-20]认为,SIRT1 抑制炎症的机制主要与降低炎症因子的转录有关。SIRT1 作为组蛋白去乙酰化酶,组蛋白是其最主要的作用底物之一。组蛋白是染色质的基本结构单位,在组蛋白相关酶作用下,可以发生甲基化、乙酰化、磷酸化等修饰过程^[21]。组蛋白 H3K9 是组蛋白乙酰化中最著名的表观遗传学标记之一,它富集在活化基因的启动子区域,并与基因表达强烈相关^[22]。本研究结果证实,肥胖大鼠脂肪组织中 IL-6 蛋白及 mRNA 表达升高,而 SIRT1 蛋白及 mRNA 表达降低。在电针的干预下,肥胖大鼠脂肪组织中 SIRT1 蛋白及 mRNA 表达被激活,相应 IL-6 蛋白及 mRNA 表达水平降低,可见电针可降低肥胖大鼠脂肪组织炎症状态,且 SIRT1 在抗炎过程中起重要作用。

通过对 H3K9 乙酰化检测的结果显示,在肥胖大鼠炎症因子 IL-6 的基因启动子区域 H3K9ac 水平明显高于正常大鼠,表明在肥胖大鼠脂肪组织 IL-6 基因启动子区富含转录激活性的乙酰化修饰的 H3K9,使 IL-6 基因处于转录激活状态。而 IL-6 基因启动子区的高乙酰化状态在电针干预后得到明显改善,并在脂肪组织细胞核中存在 SIRT1 和 H3K9ac 的共表达。因此,我们认为电针激活了脂肪细胞核中 SIRT1 的表达,去乙酰化作用于 IL-6 基因启动子区的 H3K9ac,进而降低了组蛋白的乙酰化程度,减少了 IL-6 的转录,从而控制了脂肪组织的炎症状态。

然而,电针激活 SIRT1 是否为控制 IL-6 基因启动子区组蛋白乙酰化变化的唯一原因,电针是否还调控了其他抗炎通路的表观遗传修饰,仍需进一步研究。

参考文献

- [1] AFSHIN A, FOROUZANFAR MH, REITSMA MB, et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years [J]. N Engl J Med, 2017, 377(1): 13-27.
- [2] MCGOWN C, BIRERDINC A, YOUNOSSI ZM. Adipose tissue as an endocrine organ [J]. Clin Liver Dis, 2014, 18(1): 41-58.
- [3] BILIR BE, GULDIKEN S, TUNCBILEK N, et al. The

- effects of fat distribution and some adipokines on insulin resistance [J]. *Endokrynol Pol*, 2016, 67(3): 277-282.
- [4] LUO D, LIU L, LIANG FX. Electroacupuncture: a feasible sirt1 promoter which modulates metainflammation in diet-induced obesity rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 5302049. doi: 10.1155/2018/5302049.
- [5] QI YC, XIAO XJ, DUAN RS, et al. Effect of acupuncture on inflammatory cytokines expression of spastic cerebral palsy rats [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2014, 7(6): 492-495.
- [6] BELIVANI M, DIMITROULA C, KATSIKI N, et al. Acupuncture in the treatment of obesity: a narrative review of the literature [J]. *Acupunct Med*, 2013, 31(1): 88-97.
- [7] 韦艳会, 朱世鹏, 孙亦农. 基于数据挖掘技术探析针灸治疗痰湿肥胖的经穴规律特点 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(5): 1832-1839.
- [8] 鲜琦琦, 甘朋朋, 梁凤霞, 等. 基于文献分析研究针刺治疗单纯性肥胖特定穴选用规律 [J]. *江西中医药大学学报*, 2018, 30(3): 48-50, 63.
- [9] ARGUELLES AO, MERUVU S, BOWMAN JD, et al. Are epigenetic drugs for diabetes and obesity at our door step? [J]. *Drug Discov Today*, 2016, 21(3): 499-509.
- [10] ZHANG Y, LI Y, LI J, et al. SIRT1 alleviates isoniazid-induced hepatocyte injury by reducing histone acetylation in the IL-6 promoter region [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 67: 348-355. doi: 10.1016/j.intimp.2018.11.054.
- [11] ZHANG ZF, ZHANG YQ, FAN SH, et al. Troxerutin protects against 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47)-induced liver inflammation by attenuating oxidative stress-mediated NAD(+) -depletion [J]. *J Hazard Mater*, 2015, 283: 98-109. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.09.012.
- [12] CHANDLER PC, VIANA JB, OSWALD KD, et al. Feeding response to melanocortin agonist predicts preference for and obesity from a high-fat diet [J]. *Physiol Behav*, 2005, 85(2): 221-230.
- [13] 华兴邦, 李辞蓉, 周浩良. 大鼠穴位图谱的研制 [J]. *实验动物与动物实验*, 1991(1): 1-5.
- [14] STEPIEN M, STEPIEN A, WLAZEL RN, et al. Obesity indices and inflammatory markers in obese non-diabetic normo- and hypertensive patients: a comparative pilot study [J]. *Lipids Health Dis*, 2014, 13: 29. doi: 10.1186/1476-511X-13-29.
- [15] VAN HALL G, STEENBERG A, SACCHETTI M, et al. Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(7): 3005-3010.
- [16] XIAN W, LI T, LI L, et al. Maresin 1 attenuates the inflammatory response and mitochondrial damage in mice with cerebral ischemia/reperfusion in a SIRT1-dependent manner [J]. *Brain Res*, 2019, 1711: 83-90. doi: 10.1016/j.brainres.2019.01.013.
- [17] LI J, DONG JZ, REN YL, et al. Luteolin decreases atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice via a mechanism including decreasing AMPK-SIRT1 signaling in macrophages [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(3): 2593-2599.
- [18] 陈丽. 电针调控下丘脑 SIRT1/NF- κ B 信号通路改善 ZDF 大鼠胰岛素抵抗的机制研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016.
- [19] EO H, JEON YJ, LEE M, et al. Brown alga ecklonia cava polyphenol extract ameliorates hepatic lipogenesis, oxidative stress, and inflammation by activation of AMPK and SIRT1 in high-fat diet-induced obese mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(1): 349-359.
- [20] LIU X, WANG N. Inhibition of extracellular calcium influx results in enhanced il-12 production in lps-treated murine macrophages by downregulation of the camkbbeta-ampk-sirt1 signaling pathway [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 6152713. doi: 10.1155/2016/6152713.
- [21] NISHIDA H, SUZUKI T, KONDO S, et al. Histone H3 acetylated at lysine 9 in promoter is associated with low nucleosome density in the vicinity of transcription start site in human cell [J]. *Chromosome Res*, 2006, 14(2): 203-211.
- [22] BERNSTEIN BE, KAMAL M, LINDBLAD-TOH K, et al. Genomic maps and comparative analysis of histone modifications in human and mouse [J]. *Cell*, 2005, 120(2): 169-181.

Effects of Electroacupuncture on H3K9 Acetylation Level in Interleukin 6 Gene Promoter of Adipose Tissue in Obese Rats

HUANG Qi^{1,2}, LIANG Fengxia¹, CHEN Rui³, PENG Miao¹, LI Lun¹, LI Jinxiao³

1. College of Acupuncture and Orthopedics, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan, 430014; 2. Wuhan Central Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology; 3. Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of electroacupuncture in the treatment of obesity.

Methods A number of 10 rats from 70 rats were randomly selected as a normal group and given ordinary feed. The

rest were given a high-fat diet for 8 weeks to establish an obesity model, and 30 rats that reached the obesity standard were randomly divided into a model group, an electroacupuncture group, and a sham electroacupuncture group, with 10 rats in each group. The electroacupuncture group selected “Zusanli (ST36)”, “Zhongwan (RN12)”, “Guanyuan (RN4)”, “Fenglong (ST40)” and connected them with electroacupuncture for 3 times a week for 8 weeks. In the sham electroacupuncture group, shallow acupuncture was performed about 5 mm away from the acupuncture point of the electroacupuncture group and the electrodes were clamped without electricity. The normal group and the model group were fixed at the same time. The body weight of rats in each group at 0, 2, 4, 6, and 8 weeks of intervention were recorded, and the Lee’s index was calculated. After the experiment, the interleukin 6 (IL-6) and silence information regulator 1 (SIRT1) protein and mRNA expression were detected, and the degree of H3K9 acetylation (H3K9ac) and the co-expression of SIRT1 and H3K9ac in the IL-6 gene promoter region were examined.

Results Compared with the normal group, the Lee’s index of rats in the other groups increased significantly at 0, 2, 4, 6, and 8 weeks, and the expression of SIRT1 protein and mRNA in the adipose tissue of rats in the model group decreased at 8 weeks, and the expression of IL-6 protein and mRNA increased, and the level of H3K9ac in the promoter region of IL-6 gene increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the body weight and Lee’s index of the rats in the acupuncture group decreased significantly at 6 and 8 weeks. The expression of SIRT1 protein and mRNA in adipose tissue increased, the expression of IL-6 protein and mRNA decreased, and the level of H3K9ac in the promoter region of IL-6 gene decreased ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference between the sham electroacupuncture group and the model group ($P > 0.05$). SIRT1 and H3K9ac were co-expressed in the nucleus of adipose tissue in each group. **Conclusion** Electro-acupuncture can effectively reduce the weight and Lee’s index of obese rats. The mechanism may be related to activating SIRT1 expression in adipose tissue and reducing the degree of H3K9 acetylation in the IL-6 gene promoter region.

Keywords obesity; electroacupuncture; adipose tissue; interleukin 6; silence information regulator 1; histone acetylation

(收稿日期: 2019 -04 -27; 修回日期: 2019 -07 -26)

编辑: 邓 媛