

DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2022.10.014

# 脂联素对 KGN 细胞雌激素合成和氧化应激的影响

于婷乔<sup>1</sup>, 刘芝芳<sup>1</sup>, 袁庆叶<sup>1</sup>, 石兴宇<sup>1</sup>, 李欣<sup>2\*</sup>

(1. 北京农业职业学院国际教育学院, 北京 102442; 2. 华大智造科技股份有限公司, 深圳 518000)

**【摘要】** 目的 探讨脂联素(ADP)对人卵巢颗粒细胞系(KGN)雌激素合成、氧化应激和细胞凋亡水平的影响。方法 以 KGN 为细胞模型,外源添加 ADP 或联合毛喉素(FSK)处理 24 h,同时设置空白对照组,ELISA 方法检测细胞中雌二醇和孕酮水平,Western blot 方法检测芳香化酶的蛋白表达水平,分析 ADP 对 KGN 细胞中雌激素合成的影响;利用氧化应激诱导剂叔丁基过氧化氢(tBHP)与 ADP 联合或单独处理 KGN 细胞,同时设置空白对照组,药物处理 24 h 后,利用 DCFH-DA 法检测细胞活性氧(ROS)水平,并检测丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)活性及总抗氧化能力(T-AOC)等氧化应激指标水平,利用 MTT 和流式细胞仪检测细胞活力和细胞凋亡,分析 ADP 对 tBHP 诱导的细胞氧化应激和凋亡的改善作用。结果 (1)在 FSK 存在的前提下,细胞经过 ADP 处理后,KGN 细胞合成的雌二醇和孕酮水平显著上升( $P < 0.05$ )。单独 FSK 处理以及联合 ADP 处理均显著提高 KGN 细胞的芳香化酶表达水平( $P < 0.05$ ),联合 ADP 处理后 KGN 细胞芳香化酶表达水平有进一步上升趋势,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。(2)ADP 对抗 tBHP 诱导的氧化应激的实验结果显示,与对照相比,添加 tBHP 后 KGN 细胞中 ROS、MDA 水平显著升高( $P < 0.05$ ),SOD 活性显著下降( $P < 0.05$ )。联合 ADP 处理可以显著下调 tBHP 引起的 ROS 和 MDA 水平的升高( $P < 0.05$ ),上调 SOD 活性( $P < 0.05$ );单独 ADP 处理可以上调 SOD1 的蛋白表达水平( $P < 0.05$ )。(3)流式细胞仪检测结果显示,与对照组相比,tBHP 处理后,KGN 细胞凋亡水平显著增加( $P < 0.05$ ),而联合 ADP 处理可以显著缓解 tBHP 引起的细胞凋亡( $P < 0.05$ )。结论 ADP 可能通过影响芳香化酶的表达促进 KGN 细胞中雌二醇和孕酮的合成;ADP 可能通过上调 SOD 活性,抑制氧化应激,从而缓解 tBHP 诱导的 KGN 细胞凋亡。

**【关键词】** 多囊卵巢综合征; 脂联素; 氧化应激; 细胞凋亡**【中图分类号】** R711.75**【文献标识码】** A

## Effects of adiponectin on estrogen synthesis and oxidative stress in KGN cells

YU Ting-qiao<sup>1</sup>, LIU Yi-fang<sup>1</sup>, YUAN Qing-ye<sup>1</sup>, SHI Xing-yu<sup>1</sup>, LI Xin<sup>2\*</sup>

1. International Education College, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442

2. Shenzhen MGI Technology Co., Ltd, Shenzhen 518000

### 【Abstract】

**Objective:** To explore and analyze the effects of adiponectin (ADP) on estrogen synthesis and oxidative stress (OS) in human ovarian granulosa cell line (KGN).

**Methods:** Using KGN cells as a cell model, ADP or ADP combined with forskolin (FSK) were added exogenously for 24 hours, and the control group was set at the same time. The levels of estradiol and progesterone were measured using the ELISA kit. Western blot was used to detect the protein expression level of aromatase for analysis of the effect of ADP on estrogen synthesis in KGN cells. The KGN cells were treated with oxidative stress inducer-tert-butyl hydroperoxide (tBHP) and ADP alone or combined with FSK, and the control group was set. The levels of oxidative stress indexes such as reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and total antioxidant capacity (T-AOC) were detected by DCFH-DA method. MTT and flow cytometry were used to detect cell viability and apoptosis, and the improvement of ADP on tBHP-induced oxidative stress and apoptosis was analyzed.

**【收稿日期】** 2022-02-18; **【修回日期】** 2022-06-07**【作者简介】** 于婷乔,女,黑龙江人,博士,细胞分子生物学专业。( \* 通讯作者,Email:lixin0145@hotmail.com)

**Results:** (1) On the premise of the existence of FSK, the levels of estradiol and progesterone synthesized by KGN cells were significantly increased ( $P < 0.05$ ). FSK alone or combined with ADP treatment significantly increased expression levels of aromatase in KGN cells ( $P < 0.05$ ), while compared with treatment of FSK alone, the expression level of aromatase in ADP combined with FSK showed an upward trend, but there was no significant difference ( $P > 0.05$ ). (2) The results of ADP against tBHP-induced oxidative stress showed that the levels of ROS and MDA decreased significantly ( $P < 0.05$ ), while SOD activity increased significantly ( $P < 0.05$ ) after adding ADP. Meanwhile, ADP treatment alone can up-regulate the protein expression level of SOD1 ( $P < 0.05$ ). (3) Flow cytometry showed that the level of apoptosis increased ( $P < 0.05$ ) after tBHP treatment, while combined with ADP treatment can significantly alleviate tBHP induced apoptosis ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions:** Low concentration of ADP can promote the synthesis of estradiol & progesterone and the expression of aromatase in KGN cells. ADP can inhibit tBHP-induced oxidative stress, thereby inhibiting apoptosis of KGN cell

**Key words:** Polycystic ovary syndrome; Adiponectin; Oxidative stress; Apoptosis

(*J Reprod Med* 2022,31(10):1403-1409)

国内外研究显示胰岛素抵抗、肥胖、多囊卵巢综合征(PCOS)等代谢性疾病患者血清脂联素(ADP)水平较低<sup>[1]</sup>。2004年Sieminska等<sup>[2]</sup>报道了ADP与PCOS临床表现的相关性,ADP可以改善脱氢表雄酮(DHEA)诱导的小鼠PCOS表型,并上调棕色脂肪组织(BAT)活性<sup>[3]</sup>。进一步研究发现,ADP可以影响双氢睾酮(DHT)诱导的PCOS小鼠卵巢组织中中性激素类固醇合成相关酶Cyp19a1、Hsd3b的mRNA水平<sup>[4]</sup>。在PCOS大鼠模型中,卵巢组织中ADP受体1和2的表达增加<sup>[5-6]</sup>,在一定程度上表明,ADP可能通过直接作用于卵巢组织改善PCOS症状。卵巢组织中含有颗粒细胞和膜细胞,PCOS卵巢膜细胞中ADP受体表达下降<sup>[7]</sup>,在膜细胞中ADP抑制雄烯二酮合成和雄激素合成途径中关键酶表达<sup>[8]</sup>。胎盘滋养层细胞暴露于ADP同样可以改变其类固醇生成途径<sup>[9]</sup>。此外,PCOS中ADP水平的降低可能与胰岛素抵抗和氧化应激(OS)的增加有关<sup>[2]</sup>。ADP通过降低氧化应激或通过脂联素受体1(adipor1)介导的NF- $\kappa$ B通路在 $\alpha$ 、 $\beta$ 暴露的脑内皮细胞(bEnd)中抑制脓毒症内皮细胞凋亡<sup>[10]</sup>。颗粒细胞在卵子生长和发育过程中发挥重要作用,是卵巢组织合成雌激素的主要位点。但是在卵巢颗粒细胞中,ADP对雌激素合成和氧化应激的影响尚不清楚。

因此,本研究通过利用人卵巢颗粒细胞系(KGN细胞)外源添加ADP,在毛喉素(forskolin, FSK)处理的前提下,分析细胞中雌二醇、孕酮和芳

香化酶(aromatase)的蛋白表达,观察ADP对KGN细胞中雌激素合成的影响;并进一步利用氧化应激诱导剂叔丁基过氧化氢(tBHP)和ADP联合处理,观察ADP对tBHP诱导的细胞氧化应激和凋亡的改善作用。以期探究ADP改善PCOS卵巢功能的分子机制,为PCOS相关疾病的诊疗提供参考。

## 材料和方法

### 一、实验材料

1. 细胞来源:KGN来源于国家生物医学实验细胞资源库(HTX2045,北京)。

2. 主要试剂:DMEM/F12(上海Basalmedia);胎牛血清(FBS)(Gibco,新西兰);MTT(88417)、人ADP/Acrp 30/ADIPOQ蛋白(SRP4592)、Forskolin(F3917)(默克,美国);DCFH-DA(S0033)、丙二醛(MDA)试剂盒及FITC Annexin V凋亡检测试剂盒(碧云天生物);tBHP溶液(上海麦克林生化);雄烯二酮(大连美伦生物);兔源Aromatase(#14528)、鼠源SOD1(#4266)、兔源SOD2(#13141)和鼠源b-actin(#12262)的抗体(Cell Signaling,美国);超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)检测试剂盒(南京建成生物)。

### 二、研究方法

1. KGN细胞培养及分组处理:KGN细胞在添加25 mmol/L葡萄糖、10%FBS、1%青霉素和链霉素的DMEM/F12中生长。当细胞贴壁生长至85%

~90% 时进行细胞传代,将细胞接种于 6 孔板。由于 KGN 细胞无合成雄激素的能力,因此细胞中添加雄烯二酮(100 nmol/L)。

为了分析 ADP 对 KGN 细胞活力的影响,ADP 的浓度设置了 0、0.05、0.125、0.25、0.5、1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  共 6 个浓度,每组(每个浓度)8 个孔,添加 ADP 后培养 24 h,用 MTT 定量比色法在 96 孔板上测定细胞活力<sup>[9]</sup>,选取一个合适浓度(0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )用于后续实验。

鉴于 FSK 具有调控类固醇激素合成作用,在分析 ADP 对 KGN 细胞雌激素合成的影响时,将细胞分为 4 组,分别为空白对照组、FSK 组(3  $\mu\text{mol}/\text{L}$ )<sup>[11]</sup>、ADP 组(0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、ADP(0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) + FSK (3  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) 组,药物处理 24 h 后收集细胞。用于检测雌激素水平。

此外,将 KGN 细胞接种于 6 孔板,当细胞聚集达到 70%,用 ADP(0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 单独或混合 tBHP (150  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) 处理 24 h,并设置空白对照,收集细胞用于检测细胞抗氧化应激、细胞凋亡和芳香化酶蛋白表达。

2. 雌二醇和孕酮的测定:收集 ADP 和(或) FSK 处理的各组细胞,1 000 g 离心 3~5 min 后,收集细胞上清,按照 ELISA 试剂盒(武汉赛培)的使用说明检测雌二醇和孕酮的水平。

3. 细胞内活性氧(ROS)测定:用 DCFH-DA 分光光度法测定细胞内 ROS 水平。按照 1:1 000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA,终浓度为 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。去除细胞培养液,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞,在 37℃ 下加入 1 ml 的 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$  荧光染料进行孵育,20 min 后去除荧光染料,用无血清细胞培养液洗涤细胞 3 次,充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。使用荧光显微镜成像(BX43, Olympus, 日本),并利用多功能酶标仪器(Infinite F50, Tecan, 奥地利)检测 488/525 nm 荧光强度。

4. 氧化应激指标的检测:收集不同分组处理的 KGN 细胞  $2 \times 10^5$  个,1 000 g 离心 3~5 min,分离细胞上清,按照各个指标检测试剂盒中的操作说明进行检测。

5. 细胞凋亡检测:采用 FITC Annexin V 凋亡检测试剂盒(碧云天生物)。将 KGN 细胞以约  $4 \times 10^5$  细胞的密度接种在 6 个培养皿中,每组 3 个。ADP 加或不加 tBHP 孵育 24 h 后,收集细胞,用冷 PBS 冲洗 2 次,195  $\mu\text{l}$   $1 \times$  binding buffer 重悬为  $1 \times 10^6$  细胞/ml 的细胞悬液,加入 5  $\mu\text{l}$  FITC-Annexin V 和 10  $\mu\text{l}$

PI,轻轻旋转样品,在 20~25℃ 黑暗中孵育 15 min,1 h 内用 FACScan 流式细胞仪(Becton-Dickinson, 美国)检测分析。

6. 蛋白质印迹(Western Blot):收集细胞,PBS 洗涤 3 次后加入 RIPA 裂解液处理 30 min,4℃,12 000 g 离心 20 min,收集上清,利用 BCA 检测蛋白浓度后,取 20  $\mu\text{g}$  上样,进行 SDS 凝胶电泳分离并进行 PVDF 转膜<sup>[12]</sup>。转膜结束后用 5% BSA 封闭 30 min,然后加入一抗,其中一抗稀释比例为 1:2 000(3% BSA 稀释),4℃ 孵育,摇床摇动过夜;TBST 漂洗 5 次,每次 5 min,再加入二抗(稀释比例为 1:7 500,5% 脱脂奶粉稀释),二抗常温孵育 1 h 后,TBST 漂洗。将洗好的膜放置于保鲜膜上,按照 ECL 发光试剂盒用成像系统显影(Amersham image 600, GE, 瑞典)检测。

### 三、统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行数据统计分析。实验结果以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间分析采用 One way 或 Two-way ANOVA 进行检验,两两样本比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、KGN 细胞中 ADP 促进 FSK 诱导雌二醇的合成

为了检测 ADP 对 KGN 细胞活力的影响,使用不同浓度的 ADP 处理 KGN 细胞 24 h,MTT 法检测细胞活力。结果显示,不同 ADP 浓度对细胞活力的影响不同,与空白对照组(0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )相比,0.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ADP 抑制了 KGN 细胞活力,而 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ADP 显著增强了 KGN 细胞活力( $P < 0.05$ ) (图 1A)。后续实验采用 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ADP。

ADP 对性激素合成影响的实验结果显示,与空白对照组(Con)相比,FSK 组的孕酮和雌二醇水平均显著升高( $P < 0.05$ ),而 ADP 组无显著性变化( $P > 0.05$ );与 FSK 组相比,ADP + FSK 组的孕酮和雌二醇水平也均显著升高( $P < 0.05$ ) (图 1B、C)。

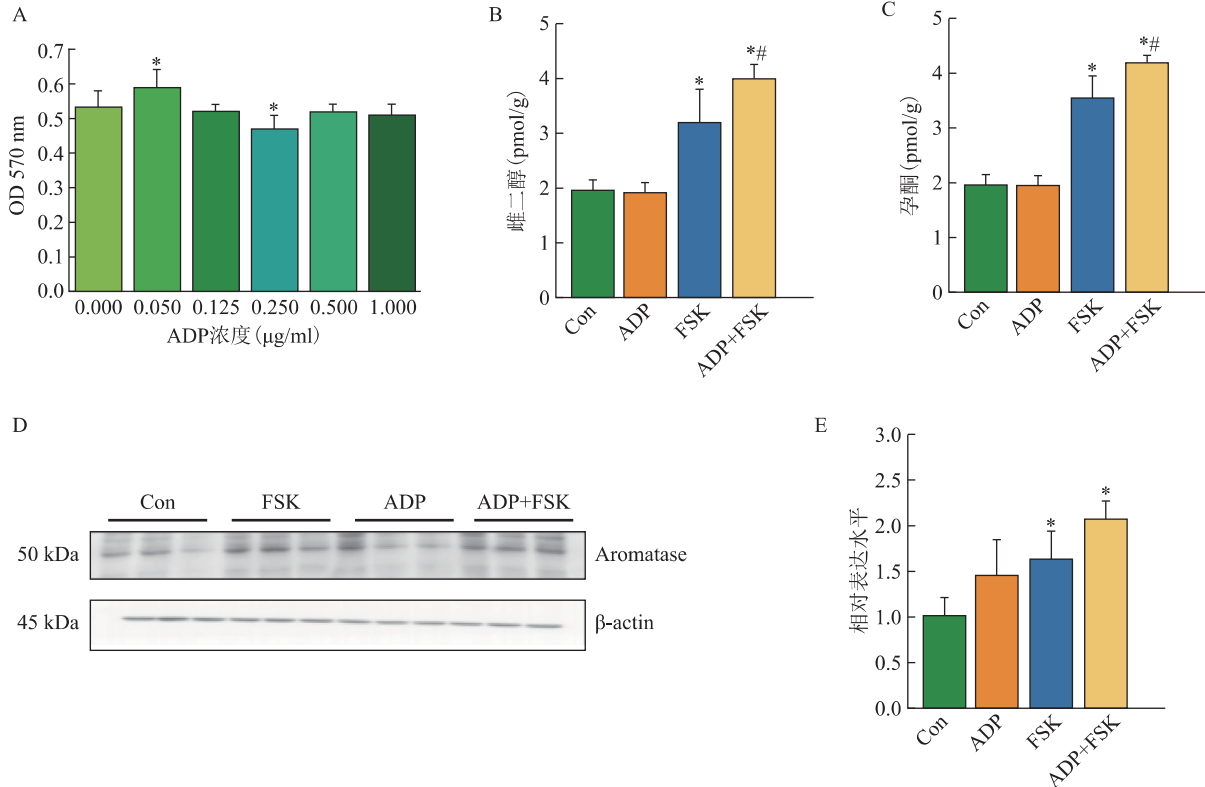
ADP 对芳香化酶表达影响的实验结果显示,与空白对照组(Con)相比,FSK 组 KGN 细胞中芳香化酶的蛋白表达水平显著上升( $P < 0.05$ );而与 FSK 组相比,ADP + FSK 组芳香化酶表达水平虽有上升趋势,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) (图 1D、E)。

### 二、ADP 抑制 tBHP 诱导的 KGN 细胞氧化

应激

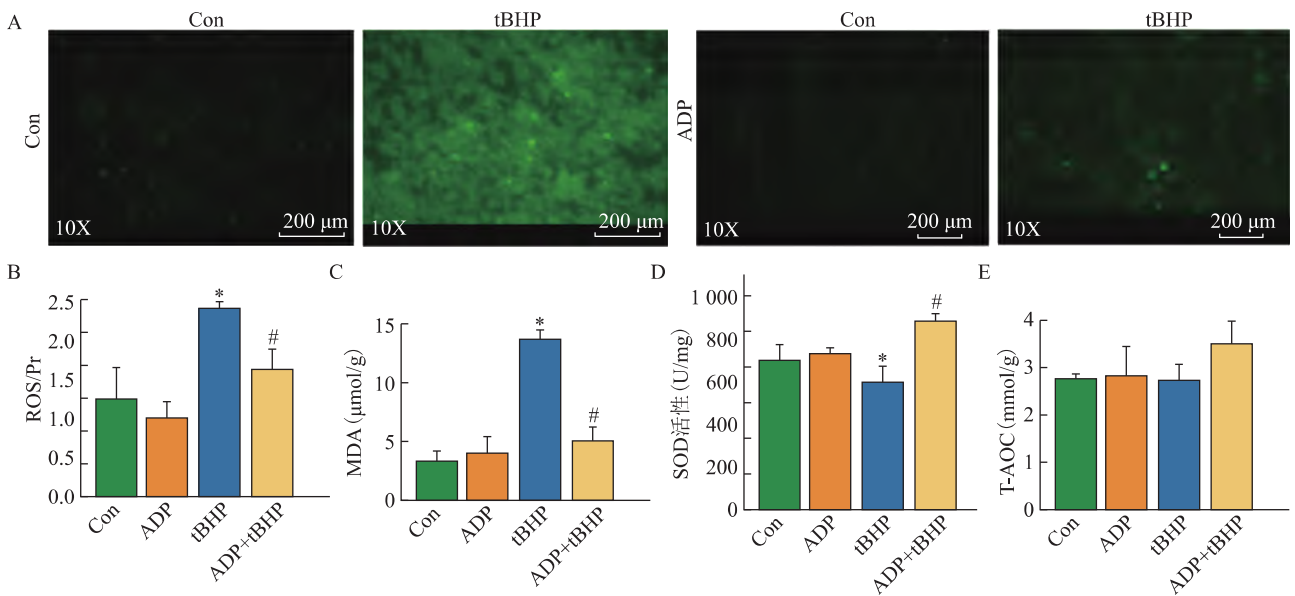
利用 DCFH-DA 染色检测 ADP 对 tBHP 诱导的 ROS 积累的影响,结果表明,与空白对照组(Con)相比,tBHP(150 μmol/L)组的 ROS 水平和 MDA 水平

显著增加,SOD 活性显著下降( $P < 0.05$ );与 tBHP 组相比,ADP+ tBHP 组的 ROS 水平和 MDA 水平显著下降,SOD 活性显著上升( $P < 0.05$ );T-AOC 水平在各组之间无显著性变化( $P > 0.05$ )(图 2)。



A:不同浓度 ADP 对细胞活力的影响;B:各组细胞的雌二醇水平;C:各组细胞的孕酮水平;D:各组细胞芳香化酶蛋白的 Western Blot 图谱;E:各组细胞芳香化酶蛋白表达水平。与 Con 组比较,\* $P < 0.05$ ;与 FSK 组比较,\* $P < 0.05$ 。

图 1 ADP 对 KGN 细胞活力及雌激素合成的影响



A:各组细胞的 DCFH-DA 染色荧光显微镜成像;B~E:各组细胞的氧化应激指标水平。与 Con 组比较,\* $P < 0.05$ ;与 tBHP 组比较,\* $P < 0.05$ 。

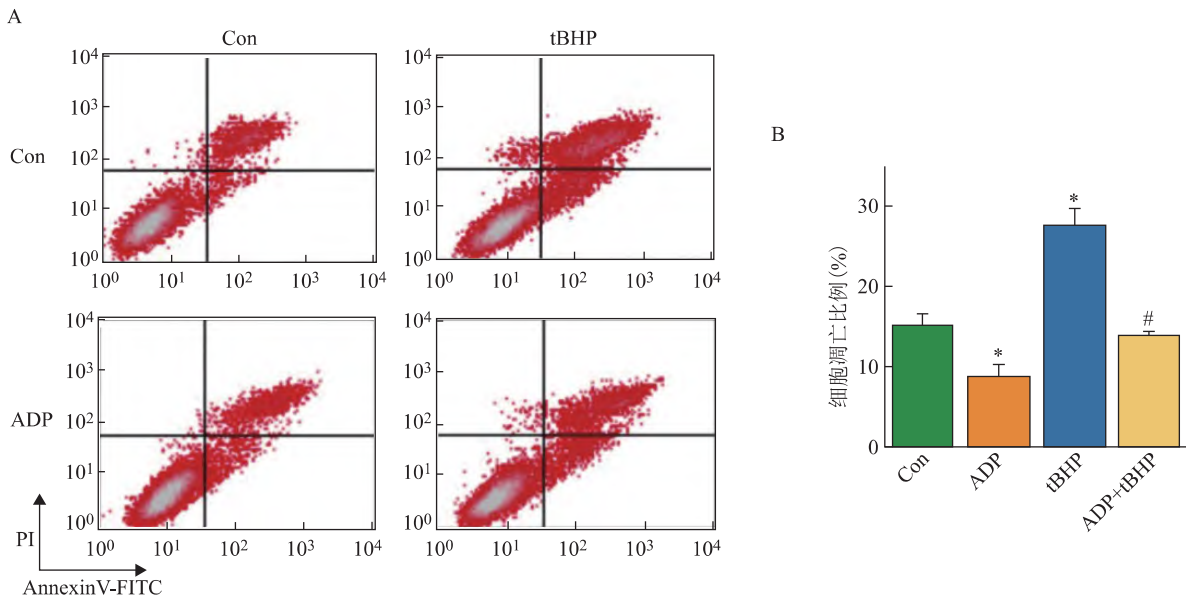
图 2 各组细胞的氧化应激水平比较

### 三、ADP 可抑制 tBHP 诱导的细胞凋亡

流式细胞仪检测结果显示,与空白对照组(Con)相比,ADP 组细胞凋亡水平显著下降,而 tBHP 组的细胞凋亡水平显著上升( $P < 0.05$ );与 tBHP 组相比,ADP+tBHP 组的凋亡水平显著下降( $P < 0.05$ ),接近于空白对照水平( $P > 0.05$ )(图 3)。

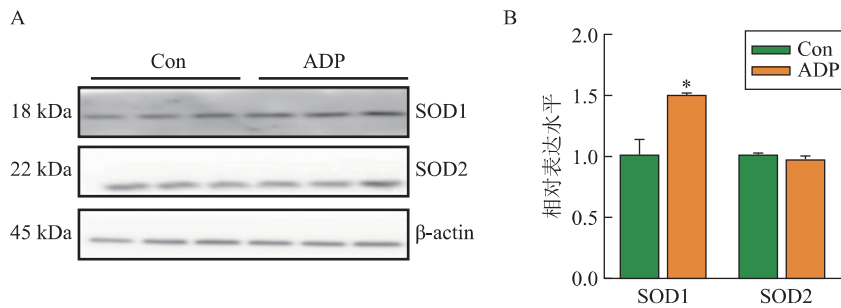
### 四、ADP 能上调 SOD1 蛋白的表达

为研究 ADP 对于抗氧化蛋白表达水平的影响,我们检测了 KGN 细胞中两种 SOD 亚型的表达:铜锌超氧化物歧化酶(Cu/ZnSOD 即 SOD1)和锰超氧化物歧化酶(MnSOD 或 SOD2)。实验结果表明,与空白对照(Con)组相比,ADP 组的 SOD1 蛋白水平显著升高( $P < 0.05$ ),而 SOD2 的蛋白水平无显著性变化( $P > 0.05$ )(图 4)。



A: 各组细胞的流式细胞检测图;B: 各组的细胞凋亡水平。与 Con 组比较,  $*P < 0.05$ ; 与 tBHP 组比较,  $#P < 0.05$ 。

图 3 各组细胞的细胞凋亡水平比较



A: 两组细胞表达 SOD 蛋白的 Western Blot 图;B: 两组细胞的 SOD1 蛋白和 SOD2 蛋白表达水平。与 Con 组比较,  $*P < 0.05$ 。

图 4 ADP 组与空白对照组的 SOD 蛋白表达水平比较

## 讨 论

临床上 PCOS 与低 ADP 水平和高氧化应激水平相关。然而,PCOS 中 ADP 与氧化应激的关系尚不清楚。本研究发现,ADP 可通过增强 SOD1 表达和 SOD 活性,抑制氧化应激诱导的 KGN 细胞凋亡。此外,我们发现 ADP 可能通过芳香化酶相关途径影响雌二醇和孕酮的合成。

ROS 的过量产生会激活氧化应激,进而损害细胞活力,最终导致细胞死亡。双酚 A<sup>[13]</sup>、镉<sup>[14]</sup>、小檗碱<sup>[15]</sup>等均可以通过 ROS 积累而诱导 KGN 细胞凋亡。在小鼠骨样细胞(MLO-Y4)中,ADP 可以降低 ROS 水平,并抑制骨细胞凋亡<sup>[16]</sup>。与以往研究结果相一致,本研究发现与空白对照组相比,tBHP 处理可以导致 KGN 细胞中 MDA 水平增加和 SOD 活性下降,导致 KGN 细胞的凋亡;与 tBHP 处理组相

比,联合 ADP 处理后可以显著下调 MDA 水平,并上调 SOD 活性。单独 ADP 处理即可降低 KGN 细胞凋亡水平,在一定程度上表明 ADP 可能作为抗 ROS 因子或 ROS 清除剂以缓解氧化应激,从而在氧化应激诱导的细胞凋亡中起保护剂的作用。

SOD 能够催化超氧阴离子自由基歧化生成氧和过氧化氢,是抗氧化酶防御 ROS 的第一道和最重要的防线<sup>[9]</sup>。我们前面的研究表明,添加 ADP 可抑制 tBHP 诱导的氧化应激,并上调细胞中总 SOD 活性。为了进一步探讨 ADP 调控氧化应激的分子机制,我们检测了 KGN 细胞中两种 SOD 亚型(SOD1 和 SOD2)的表达,发现 ADP 上调 SOD1 蛋白表达水平,但对 SOD2 表达无显著影响。结果提示 ADP 的抗氧化能力可能是通过上调 SOD1 的表达来实现的。此外,在不同细胞类型,包括神经母细胞瘤细胞<sup>[17]</sup>中同样发现,多种物质可以通过靶向 SOD1 发挥抗氧化作用而参与细胞凋亡<sup>[18-19]</sup>。

ADP 是脂肪组织分泌的一种脂肪因子,与健康个体的肥胖程度呈负相关<sup>[20-21]</sup>。ADP 水平降低最明显的后果可能是胰岛素敏感性降低<sup>[22-23]</sup>。本研究显示,低浓度 ADP(0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )可增强 FSK 促 KGN 细胞生成孕酮和雌二醇的作用;同时检测到 ADP 处理后芳香化酶蛋白水平升高。在人颗粒细胞中,在 FSH 或 IGF-1 浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  时,ADP 可增强孕酮和雌二醇的分泌<sup>[24-25]</sup>。此外,小鼠 ADP 基因的缺失会干扰激素发生、卵泡发育并降低生育力<sup>[26]</sup>。因此,了解 ADP 通过芳香化酶影响性激素的合成有利于探索 ADP 对卵巢功能影响,进而有助于研究 PCOS 的发病机制。

PCOS 患者 ADP 水平较低可能与氧化应激产物 MDA 水平及 GSH-PX 活性有关。PCOS 患者的氧化和抗氧化平衡被破坏。ROS 和氧化应激提高了诱导 PCOS 的发生和细胞周期阻滞几率,导致卵母细胞凋亡<sup>[27]</sup>。我们的研究表明,ADP 可以通过上调 KGN 细胞中 SOD1 的表达作为活性氧清除剂;ADP 可降低氧化应激水平,挽救 tBHP 诱导的细胞凋亡。ROS 的过量产生会激活氧化应激,进而破坏胰岛素信号传导,触发丝氨酸/苏氨酸激酶的激活,最终导致细胞死亡<sup>[28]</sup>。此外,ADP 通过抑制氧化应激激活的内质网应激途径降低内质网应激<sup>[27]</sup>,从而降低脓毒症引起的细胞凋亡。有研究显示 ADP 诱导 A549 人肺泡上皮细胞脂质过氧化增加,并以时间和剂量依赖的方式降低细胞活力<sup>[29]</sup>,

本研究研究结果相反,这种差异可能是由于细胞系的不同以及药物剂量和实验方法的不同。在本研究中,低浓度 ADP 足以抑制 tBHP 诱导的氧化应激和 KGN 细胞凋亡。

高雄激素血症是 PCOS 的临床特征之一。有研究报道,在  $\text{H}_2\text{O}_2$  处理的大鼠肝细胞(BRL-3A)中,脱氢表雄酮(DHEA)可提高抗氧化酶活性,减少 ROS 生成<sup>[29]</sup>。在人卵巢颗粒细胞(HO-23)中,脱氢表雄酮可以恢复饥饿诱导的 ROS 生成。因此,PCOS 患者,氧化应激的过度产生可能是由于人卵泡液中 SOD 活性的降低<sup>[30]</sup>。细胞中抗氧化酶 SOD 能保护细胞免受自由基的破坏,SOD 催化  $\text{O}_2^{\cdot-}$  分解生成  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2$ ,其速率是生理 pH 条件下自发分解的  $10^4$  倍。我们的结果提示,ADP 的抗氧化能力是通过靶向调控 SOD 来实现的。

综上所述,本研究利用 KGN 为细胞模型,分析 ADP 对 KGN 细胞中雌激素合成、氧化应激水平和细胞凋亡的影响。研究结果表明,ADP 可以增强芳香化酶的表达,促进 KGN 细胞中雌激素合成;此外,ADP 通过提高 SOD1 的表达和 SOD 的活性,抑制 tBHP 诱导的 KGN 细胞的氧化应激和细胞凋亡。本研究为探索 ADP 改善卵巢功能,缓解 PCOS 的内在机制提供了一定参考。

#### 【参 考 文 献】

- [1] Zhao S, Kusminski CM, Scherer PE. Adiponectin, leptin and cardiovascular disorders[J]. *Circ Res*, 2021, 128: 136-149.
- [2] Sieminska L, Marek B, Kos-Kudla B, et al. Serum adiponectin in women with polycystic ovarian syndrome and its relation to clinical, metabolic and endocrine parameters[J]. *J Endocrinol Invest*, 2004, 27: 528-534.
- [3] Maeda N, Funahashi T, Matsuzawa Y, et al. Adiponectin, a unique adipocyte-derived factor beyond hormones [J]. *Atherosclerosis*, 2020, 292: 1-9.
- [4] Yuan X, Hu T, Zhao H, et al. Brown adipose tissue transplantation ameliorates polycystic ovary syndrome[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: 2708-2713.
- [5] Benrick A, Chanclón B, Micallef P, et al. Adiponectin protects against development of metabolic disturbances in a PCOS mouse model[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114: E7187-E7196.
- [6] Maliqueo M, Benrick A, Alvi A, et al. Circulating gonadotropins and ovarian adiponectin system are modulated by acupuncture independently of sex steroid or  $\beta$ -adrenergic action in a female hyperandrogenic rat model of polycystic ovary syndrome[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 412: 159-169.

- [7] Benrick A, Maliqueo M, Miao S, et al. Resveratrol is not as effective as physical exercise for improving reproductive and metabolic functions in rats with dihydrotestosterone-induced polycystic ovary syndrome [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013:964070.
- [8] Comim FV, Hardy K, Franks S. Adiponectin and its receptors in the ovary: Further evidence for a link between obesity and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8:e80416.
- [9] Song J, Choi SM, Whitcomb DJ, et al. Adiponectin controls the apoptosis and the expression of tight junction proteins in brain endothelial cells through AdipoR1 under beta amyloid toxicity [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8:e3102.
- [10] Kawwass JF, Summer R, Kallen CB. Direct effects of leptin and adiponectin on peripheral reproductive tissues: a critical review [J]. *Mol Hum Reprod*, 2015, 21:617-632.
- [11] Tiemann U, Tomek W, Schneider F, et al. Effects of the mycotoxins  $\alpha$ - and  $\beta$ -zearalenol on regulation of progesterone synthesis in cultured granulosa cells from porcine ovaries [J]. *Reprod Toxicol*, 2003, 17:673-681.
- [12] Chabrolle C, Tosca L, Rame C, et al. Adiponectin increases insulin-like growth factor I-induced progesterone and estradiol secretion in human granulosa cells [J]. *Fertil Steril*, 2009, 92:1988-1996.
- [13] Huang M, Li X, Jia S, et al. Bisphenol A induces apoptosis via estrogen receptor beta ( $er\beta$ ) and ros-ask1-jnk mapk pathway in human granulosa cell line kgn [J]. *Environ Pollut*, 2021, 270:116051.
- [14] Xu G, Liu S, Huang M, et al. Cadmium induces apoptosis of human granulosa cell line kgn via mitochondrial dysfunction-mediated pathways [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 220:112341.
- [15] Li W, Li D, Kuang H, et al. Berberine increases glucose uptake and intracellular ros levels by promoting sirtuin 3 ubiquitination [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121:109563.
- [16] Zeng Y, Liang H, Guo Y, et al. Adiponectin regulates osteocytic mlo-y4 cell apoptosis in a high-glucose environment through the ampk/foxo3a signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236:7088-7096.
- [17] Dell'Orco M, Sardone V, Gardiner A, et al. Hud regulates sod1 expression during oxidative stress in differentiated neuroblastoma cells and sporadic als motor cortex [J]. *Neurobiol Dis*, 2020, 148:105211.
- [18] Wang XL, Wang L, Lin FL, et al. Protective effect of penetratin analogue-tagged SOD1 on cisplatin-induced nephrotoxicity through inhibiting oxidative stress and JNK/p38 MAPK signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*. 2021, 2021:5526053.
- [19] Meng Y, Xu X, Niu D, et al. Organophosphate flame retardants induce oxidative stress and chop/caspase 3-related apoptosis via sod1/p53/map3k6/fkbp5 in nci-1975 cells [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 819:153160.
- [20] Shaw K. Aromatase expression and function in the brain and behavior: a comparison across communication systems in teleosts [J]. *J Chem Neuroanat*, 2018, 94:139-153.
- [21] Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:1930-1935.
- [22] Saleem F, Rizvi SW. New therapeutic approaches in obesity and metabolic syndrome associated with polycystic ovary syndrome [J]. *Cureus*, 2017, 9:e1844.
- [23] Choubey M, Ranjan A, Bora PS, et al. Role of adiponectin as a modulator of testicular function during aging in mice [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865:413-427.
- [24] Carmina E, Chu MC, Moran C, et al. Subcutaneous and omental fat expression of adiponectin and leptin in women with polycystic ovary syndrome [J]. *Fertil Steril*, 2008, 89:642-648.
- [25] Chabrolle C, Tosca L, Ramé C, et al. Adiponectin increases insulin-like growth factor I-induced progesterone and estradiol secretion in human granulosa cells [J]. *Fertil Steril*, 2009, 92:1988-1996.
- [26] Pierre P, Froment P, Nègre D, et al. Role of adiponectin receptors, AdipoR1 and AdipoR2, in the steroidogenesis of the human granulosa tumor cell line, KGN [J]. *Hum Reprod*, 2009, 24:2890-2901.
- [27] Cheng L, Shi H, Jin Y, et al. Adiponectin deficiency leads to female subfertility and ovarian dysfunctions in mice [J]. *Endocrinology*, 2016, 157:4875-4887.
- [28] Csanova A, Hlavacova N, Malgorzata H, et al.  $\beta$ -adrenergic receptors, adipokines and neuroendocrine activation during stress induced by repeated immune challenge in male and female rats [J]. *Stress*, 2017, 20:294-302.
- [29] Singh A, Fernandes JRD, Chhabra G, et al. Liraglutide modulates adipokine expression during adipogenesis, ameliorating obesity, and polycystic ovary syndrome in mice [J]. *Endocrine*, 2019, 64:349-366.
- [30] Li L, Yao Y, Jiang Z, et al. Dehydroepiandrosterone prevents  $H_2O_2$ -induced BRL-3A cell oxidative damage through activation of PI3K/Akt pathway rather than MAPK pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019:2985956.

[编辑: 辛玲]