

引用格式:

毋天姣, 韩琦, 黄兴国, 田启宇, 尹杰, 印遇龙. 基于转录组学与代谢组学探究叶酸对3T3-L1前脂肪细胞成脂分化的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2026, 52(2): 128–136.

WU T J, HAN Q, HUANG X G, TIAN Q Y, YIN J, YIN Y L. Transcriptomic and metabolomic analysis of folic acid effects on adipogenic differentiation in 3T3-L1 preadipocytes[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2026, 52(2): 128–136.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



基于转录组学与代谢组学探究叶酸对3T3-L1前脂肪细胞成脂分化的影响

毋天姣¹, 韩琦¹, 黄兴国¹, 田启宇¹, 尹杰^{1*}, 印遇龙^{1,2}

(1. 湖南农业大学动物科学技术学院, 湖南 长沙 410128;

2. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 湖南 长沙 410125)

摘要: 利用高脂饮食诱导的肥胖易感(OP)与肥胖抵抗(OR)小鼠模型, 结合肝脏转录组学和粪便代谢组学联合分析, 筛选差异基因及代谢物, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测小鼠血清与粪便中的叶酸含量差异, 初步探究叶酸在3T3-L1前脂肪细胞成脂分化中的作用; 并进一步通过叶酸干预3T3-L1前脂肪细胞, 结合基因表达检测及分子对接试验, 明确叶酸对前脂肪细胞成脂分化的调控功能。结果表明: OR小鼠肝脏差异基因显著富集于叶酸生物合成通路, 且叶酸被鉴定为粪便差异代谢物, 这提示叶酸可通过调控脂质代谢参与肥胖进程; OP小鼠血清和粪便中的叶酸含量显著高于OR小鼠的, 且小鼠体脂率与其血清和粪便中叶酸含量呈正相关, 这证实机体叶酸水平与肥胖易感表型密切相关。叶酸能显著抑制3T3-L1前脂肪细胞分化、胞内脂质积累及降低脂肪细胞中甘油三酯含量, 显著或极显著下调*Pparγ*、*Acc1*、*Ppara*、*Fasn*、*Lpl*和*Hsl*的表达, 极显著上调*Cpt1a*的表达; 叶酸与PPAR γ 的结合自由能为-25.52 kJ/mol, 两者具有较好的结合活性。综上, 叶酸可显著调控3T3-L1前脂肪细胞的成脂分化, 作为脂质代谢的关键物质, 在脂肪分化及肥胖调控中发挥重要作用。

关键词: 小鼠; 叶酸; 3T3-L1前脂肪细胞; 脂质积累; 肥胖抵抗; 肥胖易感

中图分类号: S816.71

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2026)02-0128-09

Transcriptomic and metabolomic analysis of folic acid effects on adipogenic differentiation in 3T3-L1 preadipocytes

WU Tianjiao¹, HAN Qi¹, HUANG Xingguo¹, TIAN Qiyu¹, YIN Jie^{1*}, YIN Yulong^{1,2}

(1. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China;

2. Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha, Hunan 410125, China)

Abstract: Using a high-fat diet-induced obesity-prone(OP) and obesity-resistant(OR) mouse model, combined with an integrated analysis of the liver transcriptome and fecal metabolome, we screened for differentially expressed genes(DEGs) and differential metabolites. Enzyme-linked immunosorbent assays(ELISA) were employed to detect differences in folic acid content in the serum and feces of mice. Furthermore, the role of folic acid in the adipogenic differentiation of 3T3-L1 preadipocytes was preliminarily investigated. Folic acid intervention in 3T3-L1 preadipocytes, gene expression assays, and molecular docking simulations were subsequently conducted to elucidate the regulatory function of folic acid on preadipocyte adipogenic differentiation. The results demonstrated that DEGs in the livers of OR mice were significantly enriched in the folic acid biosynthesis pathway, and folic acid was identified as a differential fecal metabolite, suggesting that folic acid participates in the progression of obesity by regulating lipid metabolism. Folic acid

收稿日期: 2025-05-07

修回日期: 2026-02-07

基金项目: 湖南省重大基础研究项目(2024JC0007)

作者简介: 毋天姣(2001—), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要从事动物营养和猪脂质代谢研究, wutianjiao2026@126.com; *通信作者, 尹杰, 博士, 教授, 主要从事猪脂肪沉积、肠道微生物与宿主脂肪代谢交互研究, yinjie2014@126.com

levels in both the serum and feces of OP mice were significantly higher than those of OR mice, and the body fat percentage of mice was positively correlated with folic acid contents in the serum and feces, confirming that systemic folic acid levels are closely associated with the obesity-susceptible phenotype. *In vitro*, folic acid markedly inhibited 3T3-L1 preadipocyte differentiation and intracellular lipid accumulation, and reduced triglyceride content in adipocytes. It significantly or highly significantly downregulated the expression of *Ppar γ* , *Acc1*, *Ppara*, *Fasn*, *Lpl*, and *Hsl*, while highly significantly upregulating the expression of *Cpt1a*. Molecular docking revealed that the binding affinity between folic acid and PPAR γ was -25.52 kJ/mol, indicating favorable binding activity between the two molecules. In conclusion, folic acid significantly modulates the adipogenic differentiation of 3T3-L1 preadipocytes and acts as a key substance in lipid metabolism, playing an essential role in adipocyte differentiation and the regulation of obesity.

Keywords: mice; folic acid; 3T3-L1 preadipocytes; lipid accumulation; obesity-resistant; obesity-prone

肥胖作为一种慢性代谢性疾病,是全球公共卫生领域的重点关注问题^[1],其可导致II型糖尿病、非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)、高血脂和心血管疾病等问题的发生^[2-3],严重危害人体健康。近年来,随着肥胖患病率的持续攀升^[4],探究其发病机制及寻找有效改善肥胖的方法已成为研究的焦点。

肥胖主要源于体内脂肪的过度堆积^[5]。然而,个体对肥胖的易感性存在显著差异,部分个体即使长期摄入高热量饮食仍能维持正常体质量。由高热量饮食引起的肥胖和非肥胖表型分别被称为肥胖易感(OP)和肥胖抵抗(OR)^[6]。研究^[7]表明,脂肪细胞通过储存甘油三酯参与脂质沉积,这一过程在肥胖的发生和发展中起关键作用。脂肪前体细胞分化是脂肪生成的前提条件,因此,通过抑制前脂肪细胞的成脂分化以及减少脂肪沉积,可以有效控制肥胖的发展进程^[8]。此外,转录组分析能够系统筛选差异表达基因和功能通路,代谢组学分析能够筛选出具有特异性差异的生物标志物^[9],而肥胖的发生常伴随着机体特定基因表达与代谢物水平发生显著变化^[10],因此,整合并分析多组学数据为揭示肥胖的分子机制提供了新的研究思路。

叶酸(FA)又称维生素M或维生素B₉,是一种水溶性维生素。研究^[11]表明,叶酸参与碱基和氨基酸合成,能够促进核酸和蛋白质合成,进而调控氨基酸代谢;其水平还能直接影响细胞DNA的生物合成、甲基化反应和氨基酸相互转化。有研究^[12]表明,母亲的叶酸水平低与后代晚年肥胖、胰岛素抵抗及II型糖尿病风险增加有关。此外,补充叶酸还能够改善肥胖小鼠的胰岛素抵抗^[13]。然而,叶酸是否参与脂肪细胞内脂质积累及分化过程的调控,目前尚无深入的研究。3T3-L1前脂肪细胞来源于小鼠胚胎成纤维细胞,是一种永生细胞系^[14],因其易于在实

验室中培养和分化,被广泛应用于研究脂肪生成和分化等过程^[15]。前脂肪细胞分化受到许多因子的调控,其中,PPAR γ 是脂肪细胞分化、脂肪酸摄取及脂滴储存的核心调控因子^[16],能够促进脂肪细胞分化并调控脂肪代谢相关基因的表达。此外,脂肪酸合酶(FAS)是脂肪酸合成中的重要酶,直接参与脂肪酸的合成过程,PPAR γ 也能够通过调节FAS的表达和活性,促进脂肪酸的合成与积累^[17]。脂蛋白脂酶(LPL)的表达随脂肪细胞的分化逐渐上调,与PPAR γ 和C/EBP α 同步增加^[18]。而激素敏感性脂肪酶(HSL)作为脂肪分解的限速酶,也参与脂质的分解和动员过程^[19]。深入解析叶酸对这些成脂转录因子及关键代谢酶的影响,将有助于识别其调控脂质沉积的分子靶点。

本研究中,通过筛选肥胖易感与肥胖抵抗小鼠肝脏和粪便中的差异基因及代谢物,验证叶酸对脂肪细胞内脂质积累及分化过程的调控作用,并探究叶酸对3T3-L1前脂肪细胞成脂分化的影响,以期阐明叶酸在改善肥胖及预防相关代谢性疾病中的潜在作用机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试小鼠为8周龄C57雄性小鼠,SPF级,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。3T3-L1前脂肪细胞购自北京协和医院。细胞试验所用叶酸购自Sigma-Aldrich。

DMEM高糖培养基、胎牛血清(FBS)、1%青霉素-链霉素双抗溶液双抗(1%双抗)、无酚红TrypLE™ Express酶(1×)均购自Gibco;胰岛素购自碧云天;3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMx)、地塞米松(DEX)、叶酸、油红O均购自Sigma;PBS缓冲液

购自HyClone; 二甲基亚砜(DMSO)、MTT试剂盒均购自索莱宝; RNAiso Plus试剂、反转录试剂盒、预混型SYBR Green均购自宝日医生物技术(北京)有限公司; 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司; 甘油三酯测定试剂盒购自北京普利莱基因技术有限公司。

1.2 动物试验

1.2.1 动物试验设计

选择8周龄C57雄性小鼠56只, 分成试验组40只, 对照组(CTRL)16只。试验组小鼠连续饲喂高脂饲料12周, CTRL小鼠连续饲喂普通维持饲料12周。饲养环境温度22~25 °C, 环境相对湿度维持在55%, 保证通风条件, 采用12 h明暗交替制度, 实验动物可自由获取食物和水。参照文献[7], 试验结束时, 测定各组小鼠体质量, 以CTRL组平均体质量的1.2倍作为判定标准, 高脂饮食小鼠中体质量不低于此标准则划分为OP组小鼠, 体质量低于此标准则划分为OR组小鼠。OP、OR组均选择16只小鼠用于后续试验。

利用眼眶取血法采集小鼠外周血, 室温静置30 min后, 3 000 r/min离心15 min, 收集上层淡黄色血清于-80 °C冰箱保存待测。采用颈椎脱臼法处死小鼠, 快速开腹, 剥离肝脏组织, 分装于2 mL离心管, 用于转录组学分析; 剥离脂肪并测定其质量, 用于体脂率计算; 同时, 在无菌条件下收集小鼠新鲜粪便样品, 用于代谢组学分析。本实验方案经湖南农业大学动物保护与利用委员会(202005)批准, 实验操作严格遵守动物实验伦理与使用准则。

1.2.2 转录组学分析

每组分别随机选取8个肝脏组织样本, 使用Trizol法提取样本总RNA。RNA质控、反转录、文库构建及测序工作均委托深圳华大基因股份有限公司依托DNBSEQ测序平台完成。利用深圳华大基因股份有限公司的DR.TOM多组学交互分析系统开展转录组数据分析。以 $|\log_2FC|>1$ (FC为差异倍数)且 $P<0.05$ 为标准, 并进行多重检验校正, 筛选差异基因(DEGs), 并通过火山图进行可视化分析。同时对差异基因进行KEGG通路富集分析, 筛选关键信号通路, 绘制KEGG富集通路图。

1.2.3 代谢组学分析

每组分别随机选取10只小鼠粪便样品30 mg于2 mL离心管中, 每管加入预冷200 μ L提取液(甲醇、水体积比为4:1, 含0.02 mg/mL L-2-氯苯丙氨酸), 涡旋混匀, 再超声破碎15 min, 以提高提取效率; 随后, 将样品于4 °C、10 500 r/min离心10 min, 取上清液转移至带内插管的进样小瓶中, 用于液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)分析。非靶向代谢组学分析委托上海美吉生物医药科技有限公司采用LC-MS/MS平台完成。质谱条件: 样品质谱信号采集采用正负离子扫描模式, 质量扫描范围为70~1 050 m/z ; 鞘气流速和辅助气流速均为0.8 L/min, 辅助气加热温度为425 °C, 正模式离子喷雾电压设置为3 500 V, 负模式离子喷雾电压设置为-3 500 V, 离子传输管温度为325 °C, 归一化的碰撞能为20、40、60, 循环采集; 一级质谱分辨率为60 000, 二级质谱分辨率为7 500, 采用数据依赖型采集模式(DDA)采集数据。以变量权重值(VIP) >1 、 $|FC|>0.45$ 、 $P<0.05$ 为条件, 筛选组间差异代谢物, 进一步联合转录组学数据进行关联分析。

1.2.4 血清中叶酸含量测定

采用ELISA试剂盒测定小鼠血清中叶酸含量, 所有检测步骤均按照试剂盒说明书进行。

1.3 细胞试验

1.3.1 细胞培养与诱导分化

取出液氮冻存的3T3-L1前脂肪细胞, 置于37 °C水浴中快速复苏; 随后转移至15 mL离心管中, 添加含10%胎牛血清(FBS)和1%双抗的DMEM高糖培养基(完全培养基), 1 000 r/min离心5 min。弃上清后加入完全培养基, 轻柔吹打重悬细胞, 将悬液转移至细胞培养皿中, 采用“8”字法摇匀细胞, 放置于37 °C、5% CO₂的培养箱中培养。待细胞汇合度达到80%左右时进行传代。

在细胞汇合度达到80%~90%时, 以 1×10^6 个/mL的密度将细胞均匀接种到6孔板中, 培养至100%融合后, 更换完全培养基继续培养2 d。将3T3-L1前脂肪细胞转入含有0.5 mmol/L 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、1 μ mol/L地塞米松、10 μ g/mL胰岛素、1%双抗和10%胎牛血清的DMEM培养基(诱导分化培养基 I)中, 开始诱导(诱导分化0 d); 诱导分化3 d时, 将培

培养基替换为含有10%胎牛血清、1%双抗和10 μg/mL胰岛素的培养基(诱导分化培养基II),每3 d更换1次细胞培养液。根据说明书,使用0.1 mol/L NaOH完全溶解叶酸,每次更换培养液时,分别用浓度为0、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1 000 μmol/L的叶酸处理细胞,分化8 d后进行细胞收样。

1.3.2 叶酸对3T3-L1前脂肪细胞的毒性试验

采用噻唑蓝(MTT)比色法进行细胞毒性试验。将3T3-L1前脂肪细胞接种于96孔板中,调整细胞浓度至8 000个/孔,设置不同浓度(0、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1 000 μmol/L)叶酸处理3T3-L1前脂肪细胞,置于37 ℃、5% CO₂培养箱中培养48 h。培养结束后,小心吸去上清,每孔加入90 μL培养基和10 μL MTT溶液(5 mg/mL),轻轻混匀,放入培养箱中继续孵育4 h,至可见蓝紫色甲臞结晶时停止培养。之后吸去孔内培养基并在每孔加入150 μL DMSO,轻轻振荡使甲臞结晶完全溶解,使用酶标仪在490 nm波长处测定各孔的吸光度(OD),并计算细胞存活率。

1.3.3 细胞油红O染色及萃取定量

细胞分化8 d后,倒掉每孔的培养基,并用PBS轻轻清洗细胞3次,加入4%多聚甲醛,于室温下固定30 min;再次用PBS清洗细胞2次,并用60%异丙醇润洗15 s;用油红O染液染色1 h,过程中注意避

光;染色结束后,分别用60%异丙醇和PBS清洗细胞2次,加入1 mL PBS在显微镜(Zeiss)下观察并拍照。随后每孔加入100%异丙醇振荡萃取10 min,充分溶解脂滴结合的油红O染料,吸取上清,于510 nm处测定吸光度,以吸光值表征细胞脂质沉积水平。

1.3.4 细胞内甘油三酯(TG)检测

分别设置0 μmol/L叶酸组、溶剂组(0.1 mol/L NaOH溶液)和100 μmol/L叶酸组共3个试验组,于细胞分化8 d后,使用TG测定试剂盒测定细胞中TG含量,并以总蛋白质量标准化TG含量,结果表示为每mg总蛋白对应的TG水平。具体操作步骤按照说明书进行。

1.3.5 3T3-L1前脂肪细胞相关基因表达检测

细胞分化8 d后,弃去六孔板中的培养液,并加入预冷的PBS洗涤细胞2次;随后每孔加入1 mL TRIzol试剂提取细胞总RNA。使用Nanodrop One超微量分光光度计(Thermo Scientific)测定样品的RNA浓度和质量。使用反转录试剂盒,根据说明书进行反转录反应合成cDNA。使用预混型SYBR Green和荧光定量PCR仪(LightCycler® 480 II, Roche)进行实时荧光定量PCR反应,检测与脂肪合成、分化及分解相关基因的表达。荧光定量PCR反应条件按照说明书设置,采用2^{-ΔΔC_T}法^[20]计算基因相对表达量。试验所使用的引物序列如表1所示。

表1 实时荧光定量PCR基因表达分析引物
Table 1 Primers for real-time PCR gene expression analysis

基因	上游引物序列(5'—3')	下游引物序列(5'—3')
<i>β-Actin</i>	GTCCACCTTCCAGCAGATGT	GAAAGGGTGTAAAACGCAGC
<i>Pparγ</i>	GTA CTGTCGGTTTCAGAAGTGCC	ATCTCCGCCAACAGCTTCTCCT
<i>Ppara</i>	ACCACTACGGAGTTCACGCATG	GAATCTTG CAGCTCCGATCACAC
<i>Fasn</i>	CACAGTGCTCAAAGGACATGCC	CACCAGGTGTAGTGCCTTCCTC
<i>Acc1</i>	CCTACACCAACGGGCTCC	GTGTAAGAACTGGAGATCTCTTGGA
<i>Lpl</i>	GCGTAGCAGGAAGTCTGACCAA	AGCGTCATCAGGAGAAAGGCGA
<i>Hsl</i>	GCTCATCTCCTATGACCTACGG	TCCGTGGATGTGAACAACCAGG
<i>Cpt1α</i>	GGCATAAACGCAGAGCATTCCTG	CAGTGTCCATCCTCTGAGTAGC

1.3.6 分子对接

为了进一步探究叶酸对3T3-L1前脂肪细胞成脂分化的影响机制,通过分子对接预测叶酸与脂肪细胞分化的核心调控因子PPARγ之间的关系。首先,

利用AutoDockTools软件(版本1.5.7),对化合物叶酸和PPARγ蛋白进行预处理,并选择合适的对接位点,导出用于对接AutoDock Vina软件的配置文件。接着,利用AutoDock Vina软件进行局部搜索和重复迭

代,寻找最佳的分子对接构象。最后,利用PyMOL软件(版本2.3.0)和LigPlot+软件(版本2.2.8)进行结果分析与绘图。

1.4 数据分析

运用SPSS 23.0对试验结果进行t检验分析、回归分析(最小二乘法)等。运用GraphPad Prism 8.0软件绘图。

2 结果与分析

2.1 小鼠肝脏转录组学差异基因分析结果

由图1可知,在OP与OR组小鼠肝脏中共筛选到364个差异基因,其中,123个基因表达量显著上调,107个基因表达量显著下调。 $\log_2FC$ 排名前20的差异基因为*Kcnh3*、*Lca5l*、*Lrrc4*、*Spag6*、*1700016C15Rik*、*Zfp600*、*Gm6583*、*Dnajb3*、*Rfx8*、*Tmem253*、*Foxh1*、*Cemip*、*Fam101a*、*Qrich2*、*Tmem27*、*Btbd18*、*Gm21451*、*Ptprr*、*Otoa*、*Cyp27b1*(表2)。对筛选到的差异基因进一步进行KEGG通路富集分析,结果(图2)显示,差异基因显著富集到氧化磷酸化、胰高血糖素信号通路、丙酮酸代谢、谷胱甘肽代谢、丙酸盐代谢、胆汁分泌、叶酸生物合成等通路上,这表明肥胖易感性差异会影响氧化磷酸化、胰高血糖素信号通路以及丙酮酸代谢等过程。其中,由于哺乳动物肝细胞无法从头合成叶酸,而本研究结果显示小鼠肝脏差异基因显著富集于叶酸生物合成通路,这可能是由于肠道菌群合成的叶酸前体进入肝脏,诱导该通路相关基因上调,造成该通路被显著富集。

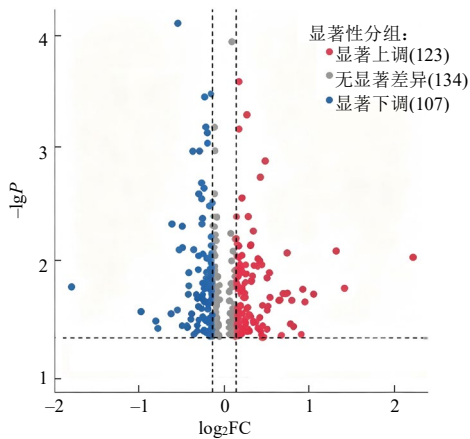


图1 基于转录组学分析的OP与OR小鼠肝脏DEGs火山图
Fig. 1 Volcano plot of hepatic DEGs in OP and OR mice based on transcriptomic analysis

表2 基于转录组学筛选的OP与OR小鼠中排名前20的DEGs

Table 2 Top 20 DEGs screened by transcriptomics in OP and OR mice			
基因	$\log_2FC$	上调/下调	P
<i>Kcnh3</i>	4.286	上调	0.013 0
<i>Lca5l</i>	3.540	上调	0.019 0
<i>Lrrc4</i>	3.440	上调	0.000 1
<i>Spag6</i>	3.105	上调	0.002 0
<i>1700016C15Rik</i>	3.029	上调	0.037 0
<i>Zfp600</i>	2.984	上调	0.030 0
<i>Gm6583</i>	2.949	上调	0.029 0
<i>Dnajb3</i>	-3.064	下调	0.010 0
<i>Rfx8</i>	-3.248	下调	0.048 0
<i>Tmem253</i>	-2.884	下调	0.007 0
<i>Foxh1</i>	-2.819	下调	0.009 0
<i>Cemip</i>	-2.683	下调	0.050 0
<i>Fam101a</i>	-2.648	下调	0.026 0
<i>Qrich2</i>	-2.599	下调	0.007 0
<i>Tmem27</i>	-2.586	下调	0.050 0
<i>Btbd18</i>	-2.586	下调	0.022 0
<i>Gm21451</i>	-2.564	下调	0.021 0
<i>Ptprr</i>	-2.538	下调	0.028 0
<i>Otoa</i>	-2.366	下调	0.017 0
<i>Cyp27b1</i>	-2.327	下调	0.010 0

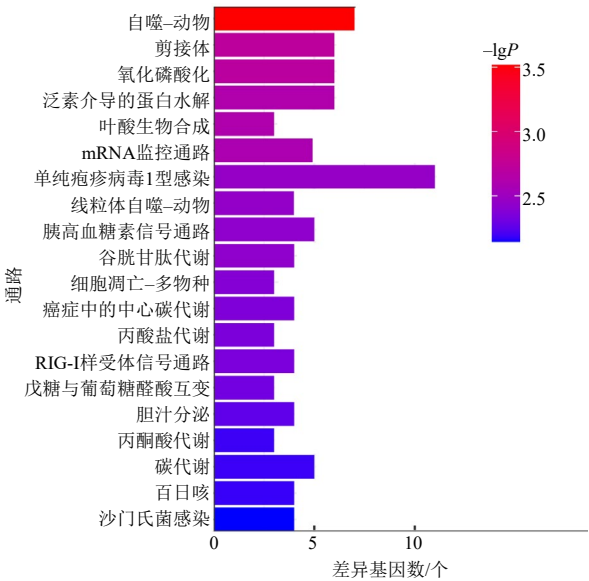


图2 基于转录组学分析OP与OR小鼠肝脏DEGs KEGG富集分析结果

Fig. 2 KEGG enrichment analysis results of hepatic DEGs between OP and OR mice based on transcriptomic analysis

2.2 小鼠粪便代谢组学分析结果

从图3可知,OP组和OR组小鼠粪便中共筛选出152个差异代谢物,与OR组相比,OP组小鼠有44个差异代谢物显著上调,108个差异代谢物显著下调。其中,叶酸属于显著下调的差异代谢物,这与转录

组中的结果一致。

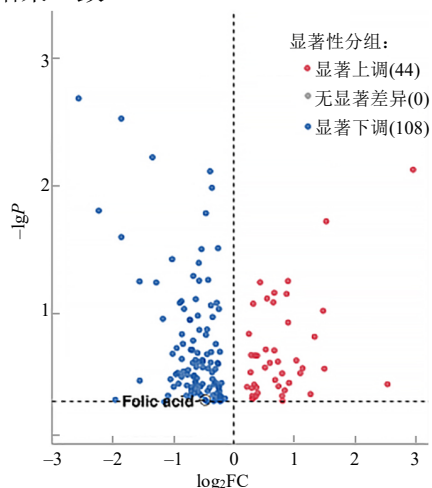
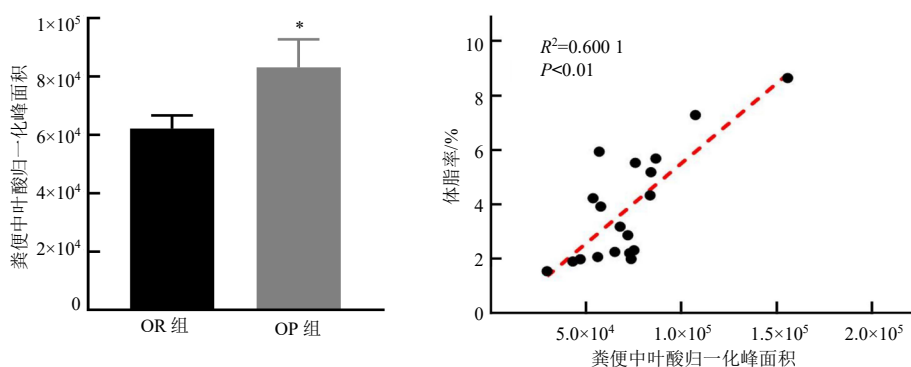


图3 基于代谢组学分析的OP与OR小鼠粪便差异代谢物火山图

Fig. 3 Volcano plot of fecal differential metabolites between OP and OR mice based on metabolomic analysis

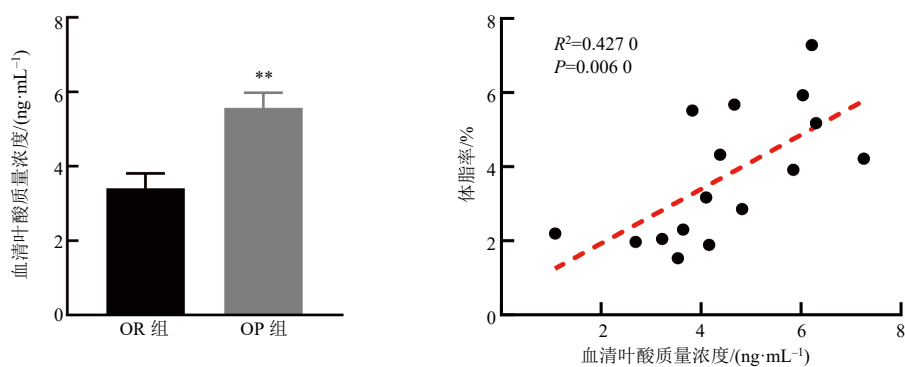
从图4可知,肥胖易感小鼠粪便叶酸含量显著高于肥胖抵抗小鼠的,且小鼠体脂率与其粪便中叶



*表示两组间的差异有统计学意义($P<0.05$)。

图4 小鼠粪便中叶酸含量及体脂率与其回归分析结果

Fig. 4 Fecal FA contents in mice and regression analysis results between body fat percentages and fecal FA contents



**表示两组间的差异有统计学意义($P<0.01$)。

图5 小鼠血清中叶酸含量及体脂率与其回归分析结果

Fig. 5 Serum FA contents in mice and regression analysis results between body fat percentages and serum FA contents

酸含量呈正相关。

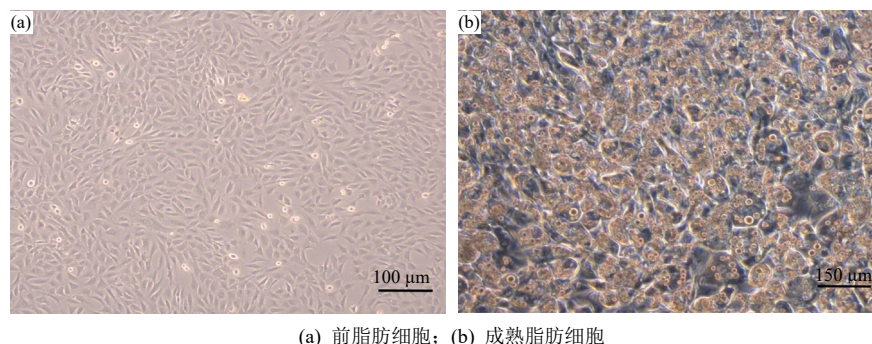
2.3 小鼠血清中叶酸含量及体脂率与其相关性

从图5可知,肥胖易感小鼠血清叶酸含量显著高于肥胖抵抗小鼠的,且小鼠体脂率与其血清中叶酸含量呈正相关。由此推断,叶酸很可能参与脂质代谢。

2.4 叶酸对3T3-L1前脂肪细胞分化的影响

从图6可知,未分化的3T3-L1前脂肪细胞呈现典型的成纤维细胞样形态,细胞呈长条状、梭形;分化后的成熟脂肪细胞形态发生显著变化,细胞明显变圆,且细胞内出现大量脂滴,呈特征性的“戒环”样。

从图7可知,不同浓度叶酸处理后,各组间3T3-L1细胞存活率的差异均无统计学意义,表明各浓度叶酸均无细胞毒性。



(a) 前脂肪细胞; (b) 成熟脂肪细胞

图6 3T3-L1前脂肪细胞分化前后的形态

Fig. 6 Morphology of 3T3-L1 preadipocytes prior to and post differentiation

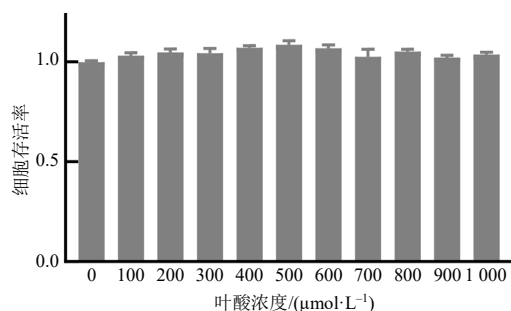
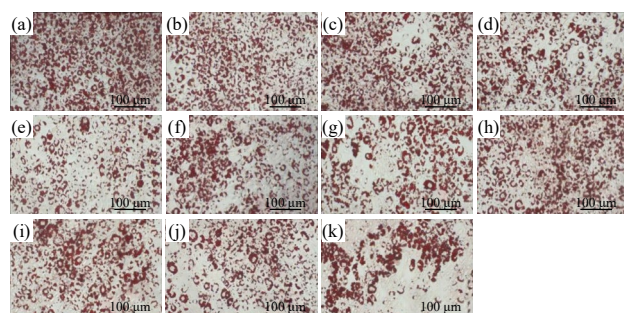


图7 不同浓度叶酸处理后3T3-L1前脂肪细胞的存活率

Fig. 7 Viability of 3T3-L1 preadipocytes under different FA concentrations



(a)~(k)叶酸浓度依次为0、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1 000 μmol/L;

**表示不同浓度叶酸组与0 μmol/L叶酸组之间的差异有统计学意义($P < 0.01$)。

图8 不同浓度叶酸处理3T3-L1前脂肪细胞的油红O染色脂质沉积形态及定量检测结果

Fig. 8 Oil Red O staining and quantification of lipid accumulation in 3T3-L1 preadipocytes under different FA concentrations

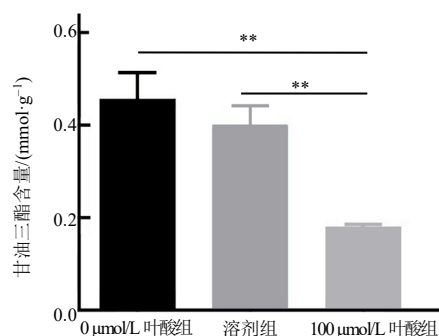
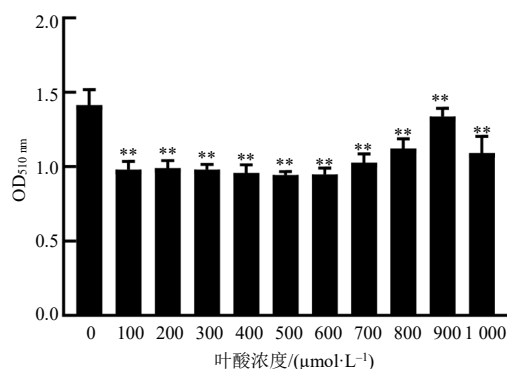
**表示100 μmol/L叶酸组与0 μmol/L叶酸组和溶剂组之间的差异有统计学意义($P < 0.01$)。

图9 叶酸处理3T3-L1前脂肪细胞的TG含量

Fig. 9 TG content of 3T3-L1 preadipocytes treated with FA

从图8可知, 不同浓度叶酸均能显著减少3T3-L1前脂肪细胞的成脂分化, 抑制脂滴的形成, 这表明叶酸能够抑制3T3-L1前脂肪细胞分化并抑制胞内脂质积累。100 μmol/L叶酸具有显著抑制脂肪细胞分化的能力, 因此, 后续试验选择100 μmol/L叶酸处理的细胞进行检测。

从图9可知, 100 μmol/L叶酸可以显著降低3T3-L1细胞中的TG含量, 与油红O染色结果一致。

以上结果表明, 叶酸在脂肪细胞分化过程中, 能够抑制3T3-L1前脂肪细胞分化, 抑制胞内脂质积累, 降低脂肪细胞中TG含量。

2.5 叶酸对3T3-L1前脂肪细胞分化相关基因表达的影响

由图10可知, 与对照组相比, 100 μmol/L叶酸能够显著下调*Pparγ*和*Acc1*的表达, 极显著下调*Ppara*、*Fasn*、*Lpl*和*Hsl*的表达, 极显著上调*Cpt1α*的表达。这表明叶酸在脂肪细胞分化的过程中, 能够通过影响细胞中*Pparγ*、*Ppara*等基因的表达抑制3T3-L1前脂肪细胞的分化。

2.6 叶酸与PPAR γ 的相互作用

从表3可知,叶酸与PPAR γ 相互作用最优模型的结合自由能为-25.52 kJ/mol, 这表明两者具有较好的结合活性, 能在自然条件下结合。图11显示了叶酸与PPAR γ 的分子对接结合模式, 可见叶酸与

PPAR γ 的氨基酸残基形成了4个氢键; 同时, 二者之间还存在静电相互作用、疏水相互作用等非键相互作用力。这表明叶酸能够通过多种分子间作用力稳定结合PPAR γ 。

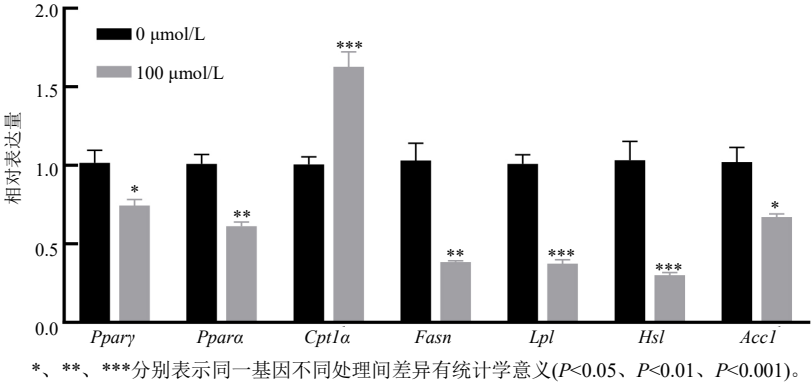


图10 叶酸处理后3T3-L1前脂肪细胞分化相关基因的相对表达量
Fig. 10 Relative expression levels of differentiation-related genes in 3T3-L1 preadipocytes after FA treatment

表3 叶酸与PPAR γ 的分子对接构象的结合自由能

Table 3 Binding free energy of the molecular docking conformations between FA and PPAR γ							
构象	结合自由能/ (kJ·mol ⁻¹)	均方根偏差 下限	均方根偏差 上限	构象	结合自由能/ (kJ·mol ⁻¹)	均方根偏差 下限	均方根偏差 上限
1	-25.52	0.000	0.000	6	-23.01	26.693	29.867
2	-23.85	33.789	33.302	7	-22.59	26.929	30.195
3	-23.85	20.180	24.467	8	-21.34	13.049	15.164
4	-23.85	32.330	35.785	9	-21.34	32.582	36.087
5	-23.85	15.363	17.309				

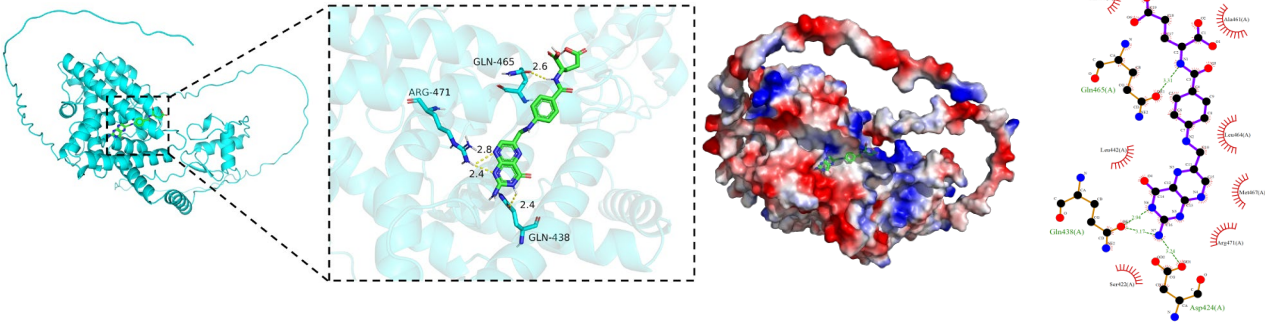


图11 叶酸与PPAR γ 的分子对接
Fig. 11 Molecular docking between FA and PPAR γ

3 结论与讨论

叶酸是一类高度保守的水溶性B族维生素, 广泛参与真核生物一碳代谢、核酸合成与脂质代谢等多种生理过程^[21]。已有研究^[22]证实, 叶酸可参与调控胰岛素抵抗、糖脂代谢稳态, 并与机体肥胖表型密切相关。本研究中, 通过筛选肥胖易感与肥胖抵抗小鼠肝脏和粪便中的差异基因及代谢物, 发现叶酸生物合成通路显著富集, 且叶酸在差异代谢物中显著下调。检测发现, 肥胖易感小鼠的血清和粪便

中叶酸含量显著高于肥胖抵抗小鼠的, 且小鼠体脂率与叶酸含量呈正相关, 这提示叶酸可能通过调控脂质代谢参与肥胖进程。已有研究^[23-24]表明, 多种小分子活性物质可直接结合脂代谢关键转录因子, 调控下游成脂相关基因表达。体外细胞试验发现, 100 $\mu\text{mol/L}$ 叶酸能够显著抑制3T3-L1前脂肪细胞分化及其脂质积累, 并能显著下调*Ppar γ* 、*Ppara*、*Fasn*、*Lpl*等与成脂分化相关基因的表达, 表明了叶酸在脂肪细胞分化中具有抑制作用。这与马亦晴^[25]在小鼠中的研究结论一致, 叶酸可下调脂肪酸合成与成脂

标志基因的表达,抑制细胞分化及脂质合成。分子对接结果进一步证实,叶酸与PPAR γ 蛋白稳定结合,表明叶酸有可能通过作用于PPAR γ 从而抑制脂肪细胞的分化。这可能是由于肥胖导致代谢紊乱,机体通过代偿性升高叶酸含量以抵抗脂肪的过度积累,而在体外细胞模型中利用叶酸处理3T3-L1前脂肪细胞模拟了这种反馈机制,从而抑制脂肪细胞分化。

综上所述,本研究揭示了叶酸作为重要的转录调控小分子,可能通过靶向结合PPAR γ 参与调控3T3-L1前脂肪细胞成脂分化进程。后续可进一步探究叶酸介导的脂代谢转录调控网络,深入解析叶酸与PPAR γ 的作用位点及信号级联反应,全面阐明其在脂肪细胞分化与肥胖发生发展中的分子机制。

参考文献:

- [1] 马依彤,刘帅. 肥胖与心血管疾病的研究进展[J]. 新疆医科大学学报, 2021, 44(10): 1111-1113.
- [2] SIDHU S K, ALEMAN J O, HEFFRON S P. Obesity duration and cardiometabolic disease[J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2023, 43(10): 1764-1774.
- [3] JAYARATHNE S, STULL A J, PARK O H, et al. Protective effects of anthocyanins in obesity-associated inflammation and changes in gut microbiome[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(20): 1900149.
- [4] 中国营养学会肥胖防控分会, 西安交通大学全球健康研究院, 国际肥胖与代谢性疾病研究中心, 等. 2025年世界肥胖报告[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2025, 46(2): 363-379.
- [5] AMBELE M A, DHANRAJ P, GILES R, et al. Adipogenesis: a complex interplay of multiple molecular determinants and pathways[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(12): 4283.
- [6] 古从伟. 多组学联合分析肥胖易感和肥胖抵抗对小鼠肠—肝—卵巢轴及生殖功能的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2023.
- [7] LI X R, REN Y K, CHANG K W, et al. Adipose tissue macrophages as potential targets for obesity and metabolic diseases[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1153915.
- [8] MILLS E L, PIERCE K A, JEDRYCHOWSKI M P, et al. Accumulation of succinate controls activation of adipose tissue thermogenesis[J]. *Nature*, 2018, 560: 102-106.
- [9] JIANG Z H, ZHOU X, LI R, et al. Whole transcriptome analysis with sequencing: methods, challenges and potential solutions[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2015, 72(18): 3425-3439.
- [10] 周宇星, 齐晨静, 李婷婷, 等. 有氧运动与补充复合多糖对高脂膳食诱导肥胖大鼠肠道菌群干预效果的宏基因组学分析[J]. 中国运动医学杂志, 2024, 43(12): 981-995.
- [11] PENTIEVA K, CAFFREY A, DUFFY B, et al. B-vitamins and one-carbon metabolism during pregnancy: health impacts and challenges[J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2025, 84(3): 264-278.
- [12] XIE R H, LIU Y J, RETNAKARAN R, et al. Maternal folate status and obesity/insulin resistance in the offspring: a systematic review[J]. *International Journal of Obesity*, 2016, 40(1): 1-9.
- [13] LI W, TANG R Q, MA F F, et al. Folic acid supplementation alters the DNA methylation profile and improves insulin resistance in high-fat-diet-fed mice[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2018, 59: 76-83.
- [14] TODARO G J, GREEN H. Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines[J]. *The Journal of Cell Biology*, 1963, 17(2): 299-313.
- [15] LANE M D, TANG Q Q. From multipotent stem cell to adipocyte[J]. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 2005, 73(7): 476-477.
- [16] 孙可丰, 李娜, 时思毛, 等. 中药异位宁对子宫内异位症大鼠Bcl-2、Fas、Caspase-3信号传导通路的影响[J]. 中医药信息, 2015, 32(6): 44-46.
- [17] NING Z F, DENG X, LI L, et al. miR-128-3p regulates chicken granulosa cell function via 14-3-3 β /FoxO and PPAR- γ /LPL signaling pathways[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 241: 124654.
- [18] HAEMMERLE G, ZIMMERMANN R, HAYN M, et al. Hormone-sensitive lipase deficiency in mice causes diglyceride accumulation in adipose tissue, muscle, and testis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(7): 4806-4815.
- [19] 韩笑, 李玉萍, 吴光杰, 等. 植物活性多糖调控脂质代谢的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 15-19.
- [20] YIN J, LI Y Y, HAN H, et al. Melatonin reprogramming of gut microbiota improves lipid dysmetabolism in high-fat diet-fed mice[J]. *Journal of Pineal Research*, 2018, 65(4): e12524.
- [21] SALBAUM J M, KAPPEN C. Genetic and epigenomic footprints of folate[M]//BOUCHARD C, ORDOVAS J M. *Recent Advances in Nutrigenetics and Nutrigenomics*. Amsterdam: Elsevier, 2012: 129-158.
- [22] 宋珂, 王毅, 潘三葱. 甘油三酯葡萄糖-体重指数与心血管及代谢性疾病相关性研究进展[J]. 心血管病学进展, 2024, 45(7): 636-641.
- [23] MOSETI D, REGASSA A, KIM W K. Molecular Regulation of adipogenesis and potential anti-adipogenic bioactive molecules[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(1): 124.
- [24] CUI K L, REN L F, ZHANG L C, et al. Ferulic acid inhibits lipogenesis and ameliorates MASLD via targeting PGC-1 β [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2026, 12: 1730916.
- [25] 马亦晴. 叶酸对酒精诱导小鼠肝脏脂肪变性的改善作用及机制研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2025.

责任编辑: 邹慧玲