

## · 论著 ·

## 基于药物重定位建立以 $\alpha 1$ 酸性糖蛋白为靶点的高通量筛选平台及潜在减肥药物的发现

陈枫<sup>1</sup>, 杨慈荣<sup>2</sup>, 张圳<sup>1</sup>, 陈飞<sup>1</sup>, 刘霞<sup>1</sup> (1. 海军军医大学药理学系临床药理学教研室, 上海 200433; 2. 92730 部队 92 分队, 海南 三亚 572000)

**[摘要]** 目的  $\alpha 1$  酸性糖蛋白(ORM)是减肥药物研发的新靶点。基于药物重定位, 拟从已上市药物的化合物库中寻找可以靶向 ORM 的潜在减肥药物。方法 构建 pGL4.20-ORM1 启动子重组质粒, 验证后利用慢病毒载体构建稳定表达 ORM1 启动子-LUC-PURO 的 AML12 细胞株, 利用该细胞株对上市药物库中化合物进行高通量筛选, 通过酶标仪对细胞的荧光值进行表征。结果 对 1 470 种化合物进行初筛和复筛, 发现 42 种化合物可以提高 ORM1 启动子表达, 可用于进一步的减肥效应评估。结论 通过慢病毒载体成功构建了 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO 稳定表达细胞株, 为高效、稳定筛选靶向 ORM 的减肥药物奠定了基础。

**[关键词]** 药物重定位;  $\alpha 1$  酸性糖蛋白; 高通量筛选; 肥胖; 减肥药物

**[文章编号]** 2097-2024(2024)03-0114-07 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202309057

## Establishment of a high-throughput screening platform based on drug repurposing targeting alpha-1-acid glycoprotein and discovery of potential weight loss drugs

CHEN Feng<sup>1</sup>, YANG Cirong<sup>2</sup>, ZHANG Zhen<sup>1</sup>, CHEN Fei<sup>1</sup>, LIU Xia<sup>1</sup> (1. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Unit 92, 92730 Force, Sanya 572000, China)

**[Abstract]** **Objective** Alpha-1-acid glycoprotein (ORM) was a new target for the development of weight loss drugs. To search for potential weight loss drugs that could target ORM from the compound library of already marketed drugs based on drug repurposing. **Methods** The pGL4.20-ORM1 promoter recombinant plasmid was constructed and validated, and then a lentiviral vector was utilized to establish stable AML12 cell lines expressing ORM1 promoter-LUC-PURO. This cell line was employed for high-throughput screening of compounds from the marketed drug library, and the luminescence value of the cells was characterized by enzyme marker. **Results** Primary screening and secondary screening of 1 470 compounds identified 42 compounds that increased ORM1 promoter expression and could be used for further weight loss effect assessment. **Conclusion** This study successfully constructed LV-AML12-ORM1 promoter-LUC-PURO stable expression cell lines using lentiviral vectors, laying a foundation for efficient and stable screening of weight loss drugs targeting ORM.

**[Key words]** drug repurposing; ORM; high-throughput screening; obesity; weight loss drugs

### 0 前言

肥胖是一种慢性代谢性疾病, 是指由于能量摄入超过消耗, 导致体内脂肪积聚过多或分布异常而造成体重增加的一种疾病。肥胖会提高 2 型糖尿病、高血压、血脂异常、心血管疾病和某些癌症的发病率<sup>[1-3]</sup>, 降低生活质量并增加死亡风险。减肥手术是最有效的减肥方法<sup>[4]</sup>, 但手术有潜在的风险和限制, 且无法满足全球范围内患者的医疗需求。改

善饮食结构、生活方式以及增加身体活动等短期行为干预也不足以达成长期减肥的目的<sup>[5]</sup>。因此, 药物治疗是中、重度肥胖患者以及有并发症的轻度肥胖患者的首要治疗选择<sup>[6]</sup>。

多年来, 减肥药物有着坎坷曲折的研发历程, 获批数量有限且许多已经上市的药物最终因心血管问题等不良反应而撤市, 如盐酸氯卡色林(5-羟色胺 2C 受体激动剂)、西布曲明(抑制去甲肾上腺素和 5-羟色胺再摄取)等。因此, 全球各大药物监管机构对减肥药物的批准一直非常严格。目前, 全球共有 8 种上市的减肥药物, 包括赛利司他(脂肪酶抑制剂)、奥利司他(脂肪酶抑制剂)、复方芬特

**[作者简介]** 陈枫, 硕士研究生, Email: chenfans@qq.com

**[通信作者]** 刘霞, 教授, 博士生导师, 研究方向: 心脑血管药理学, Email: lxflyng@aliyun.com

明-托吡酯(肾上腺素受体激动剂与 $\alpha$ -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸受体拮抗剂)、复方纳曲酮-安非他酮(肾上腺素吸收抑制剂与多巴胺摄取抑制剂)、二甲双胍(单磷酸腺苷活化蛋白激酶激动剂)、苄非他明(肾上腺素受体激动剂)以及最新批准的利拉鲁肽和司美格鲁肽(GLP-1受体激动剂)。然而,这些上市减肥药物的耐受性和安全性也受到挑战,如奥利司他会导致严重的脂肪泻;利拉鲁肽价格昂贵,存在恶心等胃肠道反应,不易推广。匮乏的减肥药物市场亟需基于新靶点的全新减肥药物以应对肥胖日益严峻的发病形势。

ORM(Orosomucoid),也称为 $\alpha$ 1酸性糖蛋白(AGP),是肝脏急性期反应蛋白<sup>[7]</sup>。ORM在人体中有2种亚型(ORM1和ORM2),小鼠中有3个亚型(ORM1、ORM2和ORM3),大鼠中仅有1种型。在人和小鼠体内,ORM1的组成水平远高于ORM2(5倍),并且只有ORM1可以被急性期刺激诱导。ORM具有转运药物、调节免疫、维持毛细血管屏障等功能<sup>[8]</sup>。团队前期研究发现,ORM具有能量代谢的调节作用,循环中的ORM可以作用于下丘脑的瘦素受体,激活JAK2-STAT3通路,抑制摄食、降低体重、改善胰岛素抵抗<sup>[9]</sup>。本团队进一步以ORM为靶点,筛选到了一个靶向上调内源性ORM的全新小分子化合物HMS-01,在瘦素缺陷的ob/ob肥胖小鼠和高脂喂食的肥胖小鼠上,均展示了良好的减肥效果,在国家重大新药创制资助下,已经进入临床前研究阶段。这些研究均提示,ORM是一个治疗肥胖的全新潜在靶点<sup>[9]</sup>,靶向上调内源性ORM的小分子有可能发展为新型减肥药物。

然而,新的减肥药物研发面临高投入、低回报的困境,传统新药研发需要消耗10~15年的时间,以及约25亿美元的投入,而达到Ⅲ期临床试验最后阶段的药物中有50%最终无法被批准上市<sup>[10]</sup>,每一次失败都会消耗大量的时间与资源。药物重定位是一种药物发现和开发的策略,旨在重新评估已经开发或研究的药物,以寻找其在新的疾病领域或治疗应用中的潜在价值。该策略的目的是最大化已有药物的利用,降低新药开发的时间和成本。本研究利用基因重组技术构建了含有ORM1启动子上游2000个碱基对序列的荧光素酶报告基因,由于ORM主要由肝脏合成,通过血液分泌至全身发挥作用,于是选用AML12小鼠正常肝细胞构建了稳定表达LV-ORM1启动子-LUC-PURO的细胞株,从而建立了一个以ORM为靶点的药物筛选平台和评价体系,用于高通量筛选上市药物库中靶

向ORM的药物,为药物重定位发现潜在减肥药物奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞及载体

AML12小鼠正常肝细胞、HEK-293T上皮细胞、载体pGL4.20[luc2/Puro]与pHBLV-CMV-MCS-EF1-puro、慢病毒包装辅助质粒pMD2.G和psPAX2均为实验室保存;DH5 $\alpha$ 感受态细胞(天根生化科技有限公司);ORM1启动子基因序列来自NCBI数据库(NC\_000070.7)。

### 1.2 主要仪器

Veriti™96孔快速热循环仪(Thermo Fisher Scientific公司,美国);移液器、低温高速台式离心机(EPPENDORF公司,德国);电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械有限公司);琼脂糖凝胶电泳仪、多功能水平电泳槽(上海天能科技有限公司);电热恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司);倒置生物显微镜(重庆光电仪器总公司);全波长多功能酶标仪(BMG,德国)。

### 1.3 主要试剂

PCR引物和基因合成(生工生物工程股份有限公司);RNA提取试剂盒RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);限制性内切酶KpnI、限制性内切酶Hind III、限制性内切酶AgeI、限制性内切酶ApaI、限制性内切酶ClaI、限制性内切酶BamHI、转染试剂Lipofectamine 3000试剂盒(Thermo Fisher Scientific公司,美国);高保真聚合酶phanta Max-Super-Fidelity DNA polymerase(南京诺唯赞生物科技股份有限公司);PCR试剂盒2X Pro Taq预混液、反转录试剂盒Evo M-MLV反转录试剂预混液、SYBR Green Pro Taq HS预混型qPCR试剂盒(湖南艾科瑞生物工程有限公司);琼脂糖凝胶DNA纯化回收试剂盒、质粒小提试剂盒(天根生化科技有限公司);HB-infusion™无缝克隆试剂盒(汉恒生物科技有限公司);转染试剂polybrene(Sigma,美国);Firefly-Glo荧光素酶报告基因检测试剂盒(大连美仑生物技术有限公司);FDA上市药物库(陶术生物科技有限公司);测序由赛业生物科技有限公司完成。

### 1.4 基因组RNA提取

提取小鼠新鲜的肝组织,使用RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒提取总RNA,反转录为cDNA,用作PCR模板,保存于-20℃冰箱。

### 1.5 ORM1 启动子目的基因的获得和扩增

根据同源重组引物设计原则和参考小鼠 ORM1(NC\_000070.7)基因组序列设计引物(选取起始位点上游 2 000 个碱基对),采用同源重组法设计引物,上游引物加入 KpnI 酶切位点,下游引物加入 Hind III 酶切位点,引物序列见表 1。产物进行琼脂糖凝胶电泳,使用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收目的基因。

表 1 ORM1 启动子基因引物序列

引物名称	引物序列(5'—3')
ORM1-F	GGGGTACCGTTCTCAGCATGTTGCATAAAT
ORM1-R	CCAAGCTTGCTGAGGGCACTCAGAGC

注: F: 正向引物; R: 反向引物。

### 1.6 报告基因质粒 pGL4.20-ORM1 启动子的构建及扩增

将 PCR 产物与载体质粒 pGL4.20 [luc2 Puro] (插入位点选择 AgeI 与 ApaI)于 37 °C 双酶切 5 h,用同源重组酶将目的片段与载体质粒连接。使用 DH5 $\alpha$  感受态细胞将重组质粒进行转化后,接种于含有嘌呤霉素抗性的固体平板,用涂布器将重组质粒涂抹均匀,倒置 37 °C 恒温箱培养 12 ~ 16 h。将筛选出来的阳性克隆进行测序,随后进行菌液扩增和质粒抽提纯化。对提取的质粒进行浓度检测和 A260/280 检测,把质粒保存于-20 °C 冰箱。构建成功的重组载体命名为 pGL4.20-ORM1 启动子。根据 Lipofectamine 3000 试剂盒说明书,分别将 pGL4.20-ORM1 启动子和 pGL4.20 转染至 AML12 小鼠正常肝细胞中,使用地塞米松(DXMS)来验证报告基因的有效性和可行性。

### 1.7 慢病毒表达载体 LV-ORM1 启动子-LUC-PURO 的构建及扩增

以 pGL4.20-ORM1 启动子重组质粒为模板,设计引物,引物序列见表 2。产物进行琼脂糖凝胶电泳,使用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收目的基因。

表 2 LV-ORM1 启动子-LUC-PURO 基因引物序列

引物名称	引物序列(5'—3')
LV-ORM1 启动子-LUC-PURO-F	GGACAGCAGAGATCCAGTTTATCGATGTTCTCAGCATGTTGCATAAATT
LV-ORM1 启动子-LUC-PURO-R	GAGCGATCGCAGATCCTTAGGATCCTTACACGGCGATCTTGCCGCCCTT

注: F: 正向引物; R: 反向引物。

将 PCR 产物与载体质粒 pHBLV-CMV-MCS-EF1-PURO(插入位点选择 ClaI 与 BamHI)于 37 °C

双酶切 5 h,用同源重组酶将目的片段与载体质粒连接。使用 DH5 $\alpha$  感受态细胞将重组质粒进行转化后,接种于含有嘌呤霉素抗性的固体平板,用涂布器将重组质粒涂抹均匀,倒置 37 °C 恒温箱培养 12 ~ 16 h。将筛选出来的阳性克隆,送赛业生物科技有限公司进行测序。测序成功之后,进行菌液扩增和质粒抽提纯化。对提取的质粒进行浓度检测和 A260/280 检测,把质粒保存于-20 °C 冰箱。构建成功的重组载体命名为 LV-ORM1 启动子-LUC-PURO。同样方法构建 LV-LUC-PURO 作为对照载体。

### 1.8 慢病毒包装及浓缩纯化及滴度检测

#### 1.8.1 包装

提前传代 HEK-293T 细胞用于转染,将慢病毒包装辅助质粒 pMD2.G 10  $\mu$ g、psPAX2 5  $\mu$ g 和 LV-ORM1 启动子-LUC-PURO 10  $\mu$ g 以及转染试剂 75  $\mu$ l 混匀后静置,在室温下温育 15 min 后缓慢滴加至 293T 细胞中,于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。转染后 16 h 更换含 10% 胎牛血清 FBS 的新鲜完全培养基。转染后 48 h 和 72 h,分别收集两次病毒上清液(48 h 收集后置换新鲜完全培养基),将两次收集的上清液混合,进行离心浓缩和病毒管分装,-80 °C 冰箱保存。

#### 1.8.2 病毒滴度检测

将生长状态良好的 HEK-293T 细胞消化计数后稀释至 1 $\times$ 10<sup>5</sup> 个/ml,加入 96 孔板,100  $\mu$ l/孔,为每个病毒准备 6 个孔。放入 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。将病毒进行 3 倍梯度稀释,共 6 个稀释度,接种于 293T 细胞,继续培养 48 h 后,在荧光显微镜下观察结果。在观察结果前 6 h 需更换新鲜 10% FBS 完全培养基,从孔中吸出 80  $\mu$ l 培养基,然后加入 80  $\mu$ l 新鲜 10% FBS 完全培养基,放入 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。6 h 后荧光显微镜下观察结果,荧光或活细胞百分比在 10% ~ 50% 的孔计算病毒滴度。目的病毒命名为 LV-ORM1 启动子-LUC-PURO。同样方法,阴性对照病毒命名为 LV-LUC-PURO。

### 1.9 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO 稳转细胞株的筛选及建立

将 AML12 小鼠正常肝细胞在含有 10% FBS、1% ITS(10  $\mu$ g/ml 胰岛素+5.5  $\mu$ g/ $\mu$ l 转铁蛋白+5 ng/ml 硒)、1% 双抗以及 40 ng/ml DXMS 的 DMEM 培养基,于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度的细胞培养箱内培养。AML12 细胞在 10 cm 培养皿中细胞长满以后,用 0.25% 胰蛋白酶消化,离心收集细胞后稀释

成密度为  $1.5 \times 10^5$  个/ml 的细胞悬液,接种于 6 孔板,每孔 2 ml,使得第 2 天细胞的融合率在 60% 左右,利于感染。设置实验组 LV-ORM1 启动子-LUC-PURO 和阴性对照组 LV-LUC-PURO,为促进病毒的感染效率,首先,感染时弃原有培养基,添加含 5% FBS 的新鲜培养液 2 ml,其次,添加助感染试剂 polybrene,使其最终浓度为 7  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。设置 2 个 (10/20) 感染复数 (MOI) 组,感染 24 h 后换新鲜完全培养基。在感染 48 h 后,观察慢病毒颗粒感染效率,倒置荧光显微镜下观察荧光比例以确定最佳感染效率,最终选定 MOI=20 的分组进行后续实验。

待细胞融合率达 60% 时,用嘌呤霉素 (0.8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 浓度处理 48 h,然后换新鲜的嘌呤霉素培养基继续处理,细胞密度超过 80% 时则进行传代处理,后续每隔 2~3 d 更换含嘌呤霉素培养基扩大培养,经过反复挑取抗药性细胞后获得的稳定转染细胞,命名为 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO。同样方法,阴性对照细胞株命名为 LV-AML12-LUC-PURO。

1.10 qPCR 检测稳转细胞株中荧光素基因的表达水平

使用 TRIzol 试剂提取组织总 RNA,使用反转录试剂盒将其逆转录成 cDNA,然后进行 PCR 扩增,采用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  分析目的基因的相对表达量,引物序列见表 3。

表 3 qPCR 引物设计序列

引物名称	引物序列 (5'—3')
Luciferase-F	CGCACATATCGAGGTGGACA
Luciferase-R	GCAAGCTATTCTCGTGCAC
mGapdh-F	GTCAAGCCGAGAATGGGAA
mGapdh-R	CTCGTGGTTCACCCATCA

注: qPCR: 实时荧光定量聚合酶链式反应; mGapdh: 小鼠甘油醛-3-磷酸脱氢酶; F: 正向引物; R: 反向引物。

1.11 荧光素酶报告分析

使用二甲基亚砜 (DMSO) 和 DXMS 来验证 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO 作为药物筛选工具的有效性和可行性。将 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO 稳转细胞株培养于 96 孔黑色侧壁透明底板,用 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$  DXMS 处理 12 h,同时用 0.1% DMSO 作为溶剂对照组。参照荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书,加入 80  $\mu\text{l}$  检测溶液,细胞充分裂解后在酶标仪中检测荧光素发光值。

为了评估本高通量细胞筛选平台的精确性和

稳定性,使用  $Z'$  因子作为度量标准, $Z'$  因子是高通量筛选中常用来评估和验证的主要统计参数之一:

$$Z' = 1 - \frac{3\sigma_{\text{DMSO}} + 3\sigma_{\text{DXMS}}}{|\mu_{\text{DMSO}} - \mu_{\text{DXMS}}|}$$

式中  $\sigma_{\text{DMSO}}$  和  $\sigma_{\text{DXMS}}$  分别为阴性对照组和阳性对照组的方差,  $\mu_{\text{DMSO}}$  和  $\mu_{\text{DXMS}}$  分别为阴性对照组和阳性对照组的平均值。若  $0.5 < Z' \leq 1$ , 则认为此筛选模型具有良好的精确性与稳定性。

1.12 药物筛选

基于对美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的药物库的筛选,选用陶术生物的 FDA 上市药物库,筛选可靶向升高 ORM 的药物。

1.13 统计学方法

实验数据使用软件 GraphPad Prism 9 进行作图和分析。两组间比较用  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 报告基因载体 pGL4.20-ORM1 启动子的鉴定及验证

测序结果表明 ORM1 的启动子基因插入正确,如图 1 所示,序列信息无误。根据 Lipofectamine 3000 试剂盒说明书转染 AML12 细胞,使用荧光素酶报告基因试剂盒和酶标仪检测发光值,如图 2 所示,荧光素成功导入报告基因 pGL4.20-ORM1 启动子中,并且可以被 DXMS 激活,证明该启动子的转录活性可用于稳转细胞株的构建。

2.2 qPCR 检测稳转细胞株中荧光素基因的表达水平

采用 qPCR 分别对稳转细胞株 LV-AML12-LUC-PURO 与 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO 进行荧光素 mRNA 水平检测,如图 3 所示,其中,荧光素基因在 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO 稳转细胞中的相对表达量是对照组 LV-AML12-LUC-PURO 的 104.06 倍。

2.3 荧光素酶活力的测定

使用荧光素酶报告基因试剂盒和酶标仪检测发光值,如图 4 所示。DXMS 的发光值是 DMSO 对照组的 4.95 倍。通过计算数据得  $Z' = 0.77$ ,说明此筛选平台可以作为一种高通量筛选的稳定方法。

2.4 药物筛选结果

通过对陶术生物的 FDA 上市药物库 1 470 种化合物筛选,以 30  $\mu\text{mol}/\text{L}$  的较高浓度初筛,将荧光值比率  $> 1.5$  的 135 种化合物作为初步命中的化合物,如图 5 所示。这 135 种药物中包含 40 种糖皮质激素类药物,但由于长期服用糖皮质激素易出现

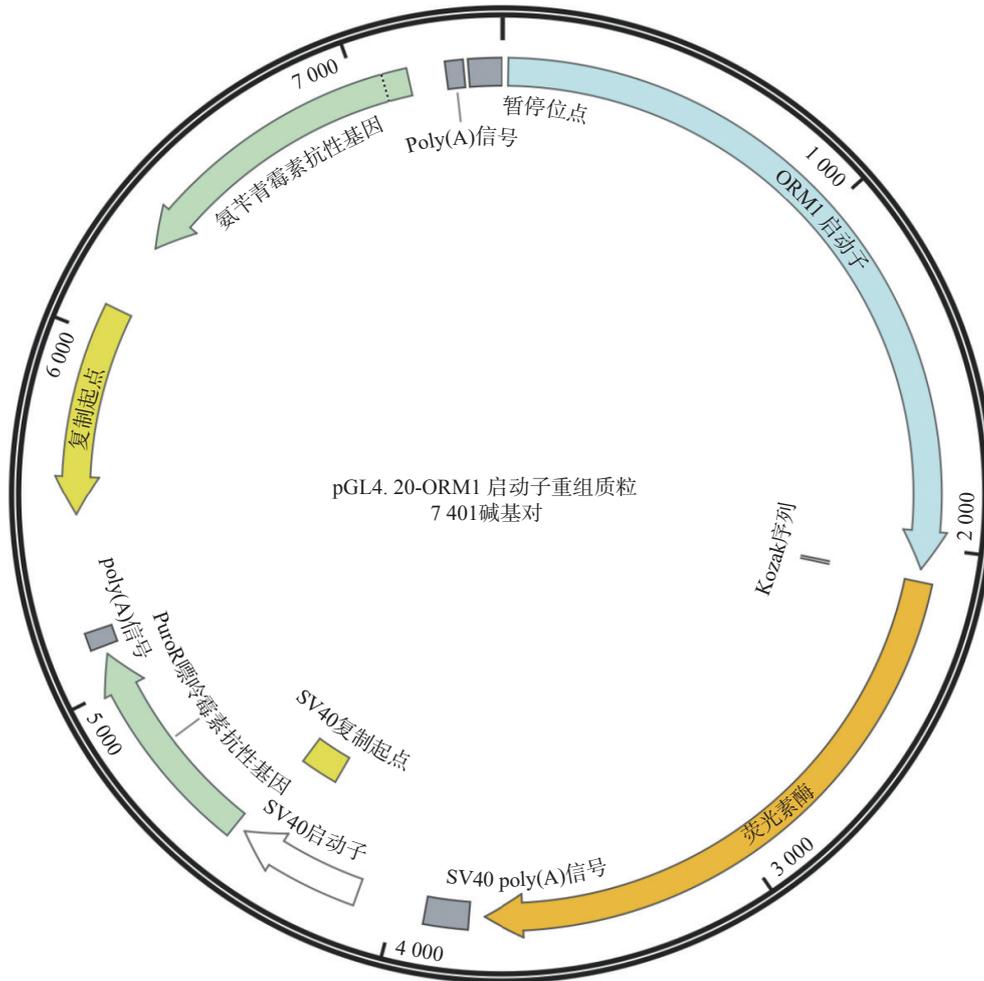


图1 pGL4.20-ORM1 启动子重组质粒图谱

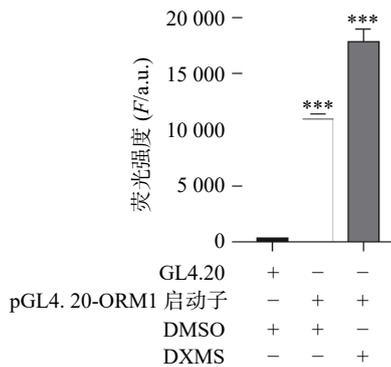


图2 报告基因载体 pGL4.20 与 pGL4.20-ORM1 启动子 荧光值检测结果

\*\*\* $P < 0.001$ , 与空白对照组(第一组)比较。

向心性肥胖,这与减肥的初衷相悖,所以将这些药物排除。之后将剩余的 95 种药物进行 30、10、1  $\mu\text{mol/L}$  浓度的复筛,避免单一浓度筛选实验出现假阳性。根据复筛结果,42 种化合物呈现出量效关系的趋势,如图 6 所示,这些化合物的类别可分为抗肿瘤药(图 6A)、抗生素(图 6B)、抗炎药(图 6C)、抗病毒药(图 6D)以及其他药物(图 6E ~ G)。

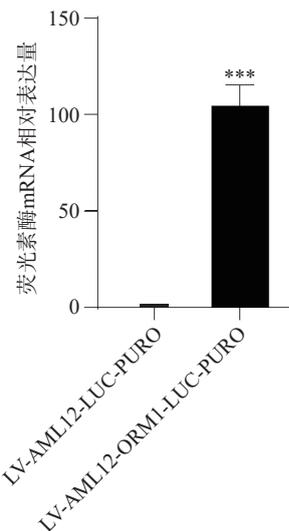


图3 稳转细胞株 LV-AML12-LUC-PURO 与 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO 的荧光素 mRNA 表达情况

\*\*\* $P < 0.001$ , 与 LV-AML12-LUC-PURO 组比较。

### 3 讨论

本课题组基于药物重定位的方法,通过构建带

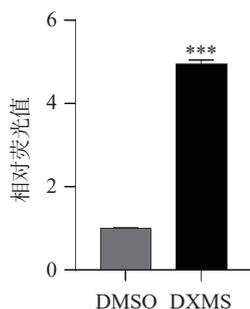


图4 阴性对照组 DMSO 与阳性对照组 DXMS 荧光值检测结果  
\*\*\* $P < 0.001$ , 与 DMSO 组比较。

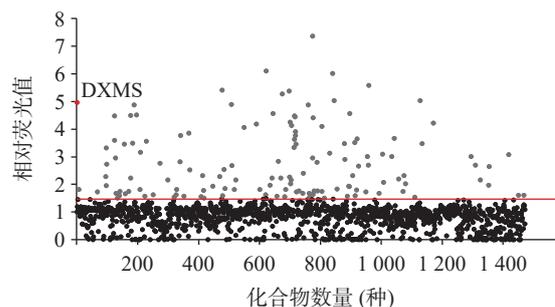


图5 初筛 1470 种化合物作用于 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO 稳转细胞的相对荧光值

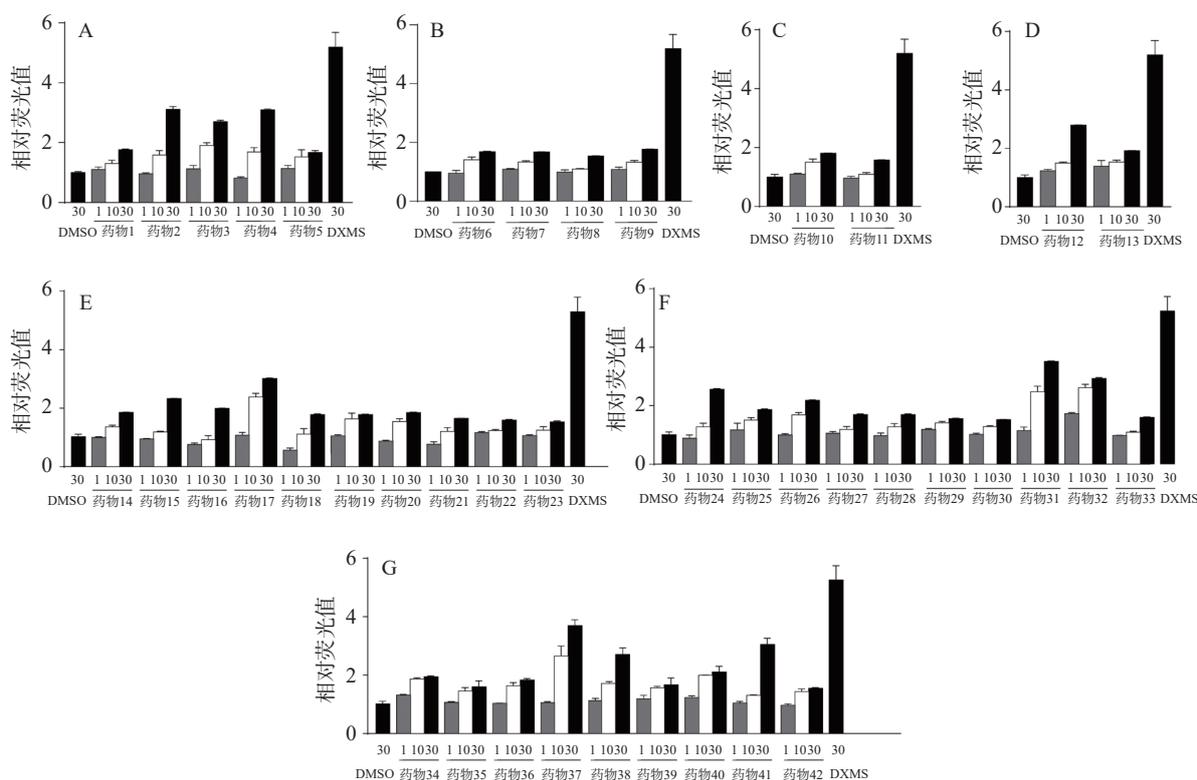


图6 复筛 42 种化合物作用于 LV-AML12-ORM1 启动子-LUC-PURO 稳转细胞的相对荧光值 ( $\mu\text{mol/L}$ )  
A.抗肿瘤药; B.抗生素; C.消炎药; D.抗病毒药; E.其他药物 14~23; F.其他药物 24~33; G.其他药物 34~42

有 ORM 启动子的稳转细胞株作为高通量筛选平台, Z'因子的值为 0.77, 证明此细胞筛选平台可作为一种高通量筛选的稳定方法。经过初筛和复筛后, 筛选出 42 种小分子药物, 这些药物可能是潜在的以 ORM 作为靶点并能发挥减肥作用的药物。中国科学院上海生命科学研究院和上海中医药大学通过合作研究这种高通量化合物筛选发现的方式, 成功发现舒尼替尼作为一种新的激活褐色脂肪组织(BAT)的小分子, 是治疗肥胖等相关代谢性疾病的潜在药物<sup>[1]</sup>。

本课题组下一步将对这 42 种小分子药物进行体内验证实验, 拟使用各个药物临床实验的安全范围内的剂量, 在高脂饮食(HFD)小鼠模型中给药,

观察药物能否显著抵抗高脂饮食诱导的肥胖, 肝脏组织和血清中 ORM 的含量是否被上调, 以及在 ORM 敲除的肥胖小鼠上观察药物的效应是否消除, 从而确定其 ORM 靶点效应。

综上所述, 本课题组为 ORM 靶向药物提供了一个快速细胞筛选平台, 并从 FDA 上市药物库中筛选出了靶向上调 ORM 的潜在治疗肥胖的药物, 为下一步减肥作用的观察奠定了基础。对这些药物及其潜在机制的研究可能会为减肥药物的发现和脂肪功能的新调节途径提供新的线索。

#### 【参考文献】

- [1] SERAVALLE G, GRASSI G. Obesity and hypertension[J]. *Pharmacol Res*, 2017, 122: 1-7.

- [2] ALPERT M A, OMRAN J, BOSTICK B P. Effects of obesity on cardiovascular hemodynamics, cardiac morphology, and ventricular function[J]. *Curr Obes Rep*, 2016, 5(4): 424-434.
- [3] TWIG G, YANIV G, LEVINE H, et al. Body-mass index in 2.3 million adolescents and cardiovascular death in adulthood[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(25): 2430-2440.
- [4] WOLFE B M, KVACH E, ECKEL R H. Treatment of obesity: weight loss and bariatric surgery[J]. *Circ Res*, 2016, 118(11): 1844-1855.
- [5] BLÜHER M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(5): 288-298.
- [6] SQUADRITO F, ROTTURA M, IRRERA N, et al. Anti-obesity drug therapy in clinical practice: evidence of a poor prescriptive attitude[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 128: 110320.
- [7] RUAN Y, XIANG K F, ZHANG H M, et al. Orosomucoid: a promising biomarker for the assessment of exercise-induced fatigue triggered by basic combat training[J]. *BMC Sports Sci Med Rehabil*, 2022, 14(1): 100.
- [8] 徐栋平. 急性期蛋白 ORM 在缺血性脑卒中的保护作用及其机制研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2018.
- [9] SUN Y, YANG Y L, QIN Z, et al. The acute-phase protein orosomucoid regulates food intake and energy homeostasis via leptin receptor signaling pathway[J]. *Diabetes*, 2016, 65(6): 1630-1641.
- [10] KORT E, JOVINGE S. Drug repurposing: claiming the full benefit from drug development[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2021, 23(6): 62.
- [11] QIU Y, SUN Y M, XU D Q, et al. Screening of FDA-approved drugs identifies sutent as a modulator of UCP1 expression in brown adipose tissue[J]. *EBioMedicine*, 2018, 37: 344-355.
- [收稿日期] 2023-09-25 [修回日期] 2024-02-04  
[本文编辑] 李睿旻

~~~~~  
(上接第 93 页)

- [39] LOUIS P, HOLD G L, FLINT H J. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2014, 12(10): 661-672.
- [40] XIE X H, LIAO J B, AI Y L, et al. Pi-Dan-Jian-qing decoction ameliorates type 2 diabetes mellitus through regulating the gut microbiota and serum metabolism[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 748872.
- [41] KRAEHENBUHL J P, PRINGAULT E, NEUTRA M R. Review article: intestinal epithelia and barrier functions[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1997, 11(s3): 3-9.
- [42] GAO Z Z, LI Q W, WU X M, et al. New insights into the mechanisms of Chinese herbal products on diabetes: a focus on the "bacteria-mucosal immunity-inflammation-diabetes" axis[J]. *J Immunol Res*, 2017, 2017: 1813086.
- [43] SHEN J, CHENG J Z, ZHU S G, et al. Regulating effect of baicalin on IKK/IKB/NF-kB signaling pathway and apoptosis-related proteins in rats with ulcerative colitis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 73: 193-200.
- [44] YANG C C, DU Y, REN D Y, et al. Gut microbiota-dependent catabolites of tryptophan play a predominant role in the protective effects of turmeric polysaccharides against DSS-induced ulcerative colitis[J]. *Food Funct*, 2021, 12(20): 9793-9807.
- [45] CHEN S Y, CHEN Z J, WANG Y, et al. Targeted delivery of Chinese herb pair-based berberine/tannin acid self-assemblies for the treatment of ulcerative colitis[J]. *J Adv Res*, 2022, 40: 263-276.
- [46] NIU C, HU X L, YUAN Z W, et al. Pulsatilla decoction improves DSS-induced colitis via modulation of fecal-bacteria-related short-chain fatty acids and intestinal barrier integrity[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 300: 115741.
- [47] GHOSH S, SINGH R, VANWINKLE Z M, et al. Microbial metabolite restricts 5-fluorouracil-resistant colonic tumor progression by sensitizing drug transporters via regulation of FOXO3-FOXM1 axis[J]. *Theranostics*, 2022, 12(12): 5574-5595.
- [收稿日期] 2023-03-08 [修回日期] 2024-01-12  
[本文编辑] 李睿旻