

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.12.015

# 基于秀丽隐杆线虫 CPL-1-5-HT 信号构建 双荧光降脂化合物筛选平台

林 燕, 张凯军, 邓羽君, 张 弦

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

**摘要:**抑制外周组织蛋白酶 L 相似蛋白(cathepsin L-like protease, CPL-1)活性可以激活中枢神经元血清素(5-HT)信号,降低秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)脂肪沉积。基于上述信号,文章利用 23 种天然提取物饲养线虫,通过实时荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测发现,多种黄酮类化合物处理显著降低葡萄糖诱导的 *cpl-1* 基因表达,并增加 *tph-1* 基因表达。利用上述黄酮类化合物处理荧光标记脂滴相关蛋白 DHS-3::GFP 线虫,检测其脂肪沉积,结果发现,黄酮类化合物均有降低葡萄糖诱导的脂肪沉积作用,提示黄酮类化合物通过 CPL-1-5-HT 信号调节线虫脂肪沉积。该文利用线虫构建了一种 CPL-1::mChOint;TPH-1::GFP 双荧光表达模型,用以快速、简便地筛选特定靶向的降脂化合物。

**关键词:**组织蛋白酶 L(CTSL);血清素;脂肪沉积;天然产物;秀丽隐杆线虫

**中图分类号:**Q493 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-5060(2024)12-1680-06

## A dual-fluorescence screening platform for natural products regulating fat deposition based on CPL-1-5-HT signaling in *C. elegans*

LIN Yan, ZHANG Kaijun, DENG Yujun, ZHANG Xian

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

**Abstract:** The activity inhibition of peripheral cathepsin L-like protease(CPL-1) can reduce the fat deposition of *Caenorhabditis elegans*(*C. elegans*) through promoting neuron serotonin(5-HT) signaling. This paper analyzed the effects of more than 23 kinds of natural products on the expression of *cpl-1* and *tph-1* induced by 1 mmol/L glucose supplementation in *C. elegans*, and found that the treatment of some flavonoids could significantly reduce the expression of *cpl-1* and increase the expression of *tph-1* based on RT-qPCR testing. It was verified that all these flavonoids could reduce the fat deposition induced by glucose using the worms expressing lipid droplet marker DHS-3::GFP. These results suggested that flavonoids could regulate fat deposition in *C. elegans* through CPL-1-5-HT signaling. Therefore, a *C. elegans* dual-fluorescence expression model of CPL-1::mChOint;TPH-1::GFP was established to be used as a rapid and efficient *in vivo* screening platform for screening fat-regulating natural products.

**Key words:** cathepsin L(CTSL); serotonin; fat deposition; natural products; *Caenorhabditis elegans*(*C. elegans*)

肥胖作为一种慢性低等炎性疾病<sup>[1]</sup>,是 II 型糖尿病、心血管疾病、非酒精性脂肪肝、高血压及

某些癌症等疾病的主要内在病因,严重地危害了人类的健康安全<sup>[2-3]</sup>。在肥胖的研究中,传统的动

收稿日期:2022-10-10;修回日期:2022-11-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32200630);合肥工业大学青年教师科研创新启动专项 A 资助项目(JZ2022HGQA0236)

作者简介:林 燕(1986—),女,安徽合肥人,博士,合肥工业大学讲师;

张 弦(1988—),女,安徽合肥人,博士,合肥工业大学副研究员,硕士生导师。

物模型主要是啮齿类动物,包括小鼠和大鼠等。这些动物的寿命以 a 为单位,并且对这些模式生物的基因改造相对费时费力。秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 简称线虫,是一种简单的真核、多器官动物,因其与哺乳动物高度同源的基因组组成以及便捷的遗传学操作,已成为一种重要的脂肪沉积研究模型<sup>[4-5]</sup>。

脂滴是线虫中一种特化的脂肪储存结构,可以被尼罗红、苏丹黑和油红 O 等亲油性染料着色,并通过测量结合的染料强度进行定量<sup>[6-7]</sup>。此外,利用荧光标记脂滴膜蛋白的相关转基因线虫,也是一种快速检测脂肪沉积的手段。从形态学和生化的角度分析,短链脱氢酶 DHS-3 几乎只定位于线虫的脂滴周围,因此它作为脂滴的标记蛋白,可以作为一种检测脂肪沉积的手段<sup>[8-9]</sup>。线虫作为一种重要的模式生物,除了存在与哺乳动物同源的基因,还存在许多保守的信号通路,参与脂肪沉积的调控<sup>[10]</sup>,包括胰岛素信号通路<sup>[11]</sup>、TGF- $\beta$  信号通路<sup>[12]</sup>以及血清素(5-HT)信号通路<sup>[13]</sup>。因此,线虫已经成为研究肥胖治疗、探索与肥胖相关的单基因突变机制,并定义脂肪代谢机制细节的优秀模型。

组织蛋白酶 L(CTSL)是一种重要的弹力蛋白酶和胶原蛋白酶,其通过参与脂肪组织的细胞外基质降解,促使脂肪细胞增大,同时促进免疫细胞进入脂肪组织<sup>[14]</sup>。此外,在线虫中的研究显示,随着葡萄糖和棕榈酸等营养物质的补充,线虫体内脂肪沉积增加,线虫中组织蛋白酶 L 相似蛋白(cathepsin L-like protease, CPL-1)的表达也随之增加。同时, *cpl-1* 的功能失活,可以激活中枢 5-HT 的合成,通过促进储脂组织的脂解和脂肪酸氧化,进而降低线虫的脂肪沉积<sup>[15]</sup>。根据同源研究还发现,在高脂饮食小鼠中外周 CTSL 抑制也可以通过促进中枢 5-HT 的合成,最终调节小鼠体质量降低。因此,CTSL 及其同源的 CPL-1 在调控生物体脂肪沉积的过程中发挥着重要的作用。

基于上述 CPL-1-5-HT 信号调控线虫脂肪沉积的理论基础,本文利用多种天然提取物对线虫进行处理,通过实时荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测发现,黄酮类化合物处理可以显著降低葡萄糖诱导的 *cpl-1* 基因表达,并增加 *tph-1* 基因表达,提示这些黄酮类化合物可能对 CPL-1-5-HT 信号通路具有调控作用。利用上述黄酮类化合物处理荧光标记线虫脂滴相

关蛋白 DHS-3::GFP 线虫,检测其体内脂肪沉积,结果发现,这些黄酮类化合物均有降低葡萄糖诱导的 DHS-3::GFP 的表达,即降低线虫脂肪沉积的作用。由此推断,黄酮类化合物具有通过 CPL-1-5-HT 信号调控线虫脂肪沉积的作用。本文在线虫中建立一种 CPL-1::mChOint; TPH-1::GFP 双荧光表达模型,用以快速鉴定筛选特定靶向的降脂化合物。

## 1 材料与方法

### 1.1 线虫培养

野生型秀丽隐杆线虫 Bristol N2、LIU1 *ldrIs1*[*dhs-3p*::*dhs-3*::GFP+*unc-76*(+)]和 GR1366 *mglS42*[*tph-1*::GFP+*pRF4*(*rol-6*(*su1006*))]均购于秀丽隐杆线虫遗传中心;CPL-1::mChOint 转基因线虫 yqEx688 (*P<sub>cpl-1</sub>* *cpl-1*::mChOint)由中国科学院遗传与发育生物学研究所杨崇林教授惠赠;线虫以大肠杆菌 OP50 为食,在第 1 幼虫时期(L1 期)被转移至含各种天然产物的培养基中,于 20 °C 下培养 44 h 后至成虫,进行相关检测。

### 1.2 含天然产物培养基配制

本文使用的天然化合物主要有木犀草素(luteolin)、槲皮素(querletin)、白杨素(chrysin)、白桦脂酸(betulinic acid)、芹菜素(apigenin)、葛根素(puerarin)、金丝桃苷(hyperoside)、山奈酚(kaempferol)、杨梅素(myricetin)、刺囊酸(echinocystic acid)、常春藤苷(hederacoside)、大黄素(emodin)、黄芩素(baicalin)、女贞苷(nuezhenoside)、异莲心碱(isoliensinine)、异甜菊醇(isosteviol)、苍术苷(atractyloside)、橙皮素(hesperetin)、甘露醇(mannitol)、大戟因子(euphorbia factor)、环巴胺(cyclopamine)、小白菊内酯(parthenolide)和柚皮素(naringenin),均为分析纯,均购于上海源叶生物科技有限公司。

称取 3 g 氯化钠、17 g 琼脂粉、2.5 g 蛋白胨,溶解于 975 mL 蒸馏水中,121 °C 灭菌 50 min,待温度降至 65 °C 左右时,加入过滤除菌的 1 mL 硫酸镁(1 mol/L)、1 mL 氯化钙(1 mol/L)、1 mL 胆固醇(5 mg/mL 溶于无水乙醇)、25 mL 磷酸钾缓冲液(1 mol/L, pH 值为 6.0)、1 mL 链霉素(30 mg/mL),得到线虫生长培养基(nematode growth medium, NGM)。将 100 mmol/L 溶于二甲基亚砜(DMSO)的天然产物母液过滤除菌后按 1:1 000 的体积比加入到无菌温热的 NGM 中,

混合均匀后,倒入培养皿中,凝固后备用。

### 1.3 线虫同步化

将 2~3 d 的成虫用 M9 缓冲液(3 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、6 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、5 g  $\text{NaCl}$ 、1 mL 1 mol/L  $\text{MgSO}_4$ ,加蒸馏水至 1 L)转移至离心管中,洗 2~3 遍,向 700  $\mu\text{L}$  含虫体的 M9 缓冲液中加入 300  $\mu\text{L}$  现配的裂解液(5 mol/L  $\text{NaOH}$  和 5%  $\text{NaClO}$ ,两者体积比为 1:2),充分震荡混匀,静置 2 min,再次震荡,重复 2~3 次;裂解结束后,3 000g 离心 2 min,弃上清;用 M9 缓冲液清洗 2~3 遍,离心弃上清,最后将虫卵转移到 M9 缓冲液中孵化至 L1 期。

### 1.4 线虫总 RNA 提取

将线虫成虫转移至 1.5 mL 的离心管中,除去培养基中的大肠杆菌,并用 M9 洗 2~3 遍,去掉上清。加入 300  $\mu\text{L}$  RNAiso Plus,充分匀浆,再向匀浆液中加入 700  $\mu\text{L}$  RNAiso Plus 充分混匀,室温下静置 10 min,12 000g,4  $^\circ\text{C}$  离心 5 min,取上清,转移到新的无 RNA 酶的离心管中。向上清液中加入 1/5 体积氯仿,剧烈震荡,室温静置 5 min,12 000g,4  $^\circ\text{C}$  离心 15 min。取无色上清液至新的 RNase free 离心管中,加入等体积异丙醇,上下颠倒混匀,室温静置 10 min,12 000g,4  $^\circ\text{C}$  离心 10 min,弃上清,加入 1 mL 的 75%乙醇清洗沉淀,轻轻颠倒清洗,12 000g,4  $^\circ\text{C}$  离心 5 min,弃上清保留沉淀,室温下干燥 3~5 min,向沉淀中加入 20  $\mu\text{L}$  DEPC 水,轻微震荡使其溶解。通过电泳及核酸分析仪检测 RNA 质量浓度和纯度,将 2  $\mu\text{L}$  RNA 加入到 198  $\mu\text{L}$  DEPC 处理的去离子水中,测定 RNA 质量浓度和纯度。

### 1.5 线虫反转录及实时荧光定量 PCR

吸取 2  $\mu\text{g}$  总 RNA,加入 1  $\mu\text{L}$  oligo d(T) 18 (500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )和 1  $\mu\text{L}$  10 mmol/L dNTP 混合物,然后加入无菌双蒸水至 12  $\mu\text{L}$ ,65  $^\circ\text{C}$  加热 5 min,迅速置于冰上冷却,短暂离心。加入 4  $\mu\text{L}$  5 $\times$  第一链合成缓冲液,2  $\mu\text{L}$  0.1 mol/L 二硫苏糖醇(DTT)和 1  $\mu\text{L}$  M-MLV 逆转录酶,轻轻吹打至均匀,37  $^\circ\text{C}$  孵育 50 min。70  $^\circ\text{C}$  加热 15 min 以终止反应,-20  $^\circ\text{C}$  储存 cDNA。

取 1  $\mu\text{L}$  cDNA 加入 10  $\mu\text{L}$  TaKaRa SYBR<sup>®</sup> Premix Ex TaqTM、各 0.4  $\mu\text{L}$  的上游和下游引物、8.2  $\mu\text{L}$  双蒸水建立 20  $\mu\text{L}$  的定量 PCR 反应体系,用以检测基因表达的水平。数据处理使用 2<sup>- $\Delta\Delta\text{Ct}$</sup>  方法进行处理,用目的基因相对于 *act-1* 的水平来表示目的基因的表达水平。本文使用的基

因引物序列见表 1 所列。

表 1 引物序列

基因名称	引物方向	引物序列
<i>act-1</i>	F	GCCGGAGACGACGCTCCACGCG
	R	GCCTCGTCTCCGACGTACGAGTC
<i>cpl-1</i>	F	GGTCCCAGATGAGGTTGACTGGC
	R	GCGAGCGTGTGTCTTTCGAGGG
<i>tph-1</i>	F	TGACGCTGCCGATTCTCCAG
	R	GCATGTTGCAACTCGCCAGC

### 1.6 荧光拍照及定量

将培养至成虫荧光线虫转移至含 5 mmol/L 左旋咪唑的 M9 缓冲液中,孵育 20 min。将麻醉后的线虫转移到含 2% 琼脂糖凝胶的载玻片上,在荧光显微镜下观察并拍照。为了检测线虫荧光的表达强度,线虫的图像通过 Image-Pro Plus Version 6.0 软件检测肠后部同一区域荧光面积。每种条件测量 30 只线虫,重复 3 次独立实验。

### 1.7 统计分析

所有的数据均用(平均值 $\pm$ 标准差)表示。文中所有统计学分析均相对于 1 mmol/L 葡萄糖处理组(Student's *t* 检验),统计学软件为 Graph-Pad prism 7.0。\* 表示  $P < 0.05$  有统计学差异,\*\* 表示  $P < 0.01$  有显著统计学差异,\*\*\* 表示  $P < 0.001$  有极其显著统计学差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 天然化合物对 CPL-1-5-HT 信号的影响

CPL-1 的抑制可以通过增强中枢神经系统 5-HT 信号,降低线虫的脂肪沉积。为了进一步确定这一信号通路在体内的作用,本文利用 23 种天然化合物处理线虫,包括黄酮、生物碱、内酯类、酚类等物质,检测线虫体内 CPL-1-5-HT 信号中 2 个关键基因 *cpl-1* 和 *tph-1* 的 mRNA 表达变化。为了研究天然化合物对线虫脂肪沉积的降低作用,本文首先利用 1 mmol/L 葡萄糖诱导线虫脂肪沉积增加,建立高糖诱导脂肪沉积的模型。已有的研究显示,较低浓度(1 mmol/L)的葡萄糖处理不会改变线虫的生长发育和寿命<sup>[15]</sup>。各种天然化合物以相同的浓度添加到含 1 mmol/L 葡萄糖的固体 NGM 中,将同步化后的 L1 期线虫接种于培养基上,生长至成虫,检测线虫中 *cpl-1* 和 *tph-1* 的基因表达,结果如图 1 所示。图 1 中,编号 1~编号 25 分别代表溶剂 DMSO、葡萄糖、木犀草素、槲皮素、白杨素、芹菜素、葛根、山奈酚、杨

梅素、黄芩素、橙皮素、柚皮素、金丝桃苷、常春藤苷、大黄素、女贞苷、异甜菊醇、苍术苷、甘露醇、大

戟因子、白桦脂酸、刺囊酸、小白菊内酯、环巴胺、异莲心碱。下同。

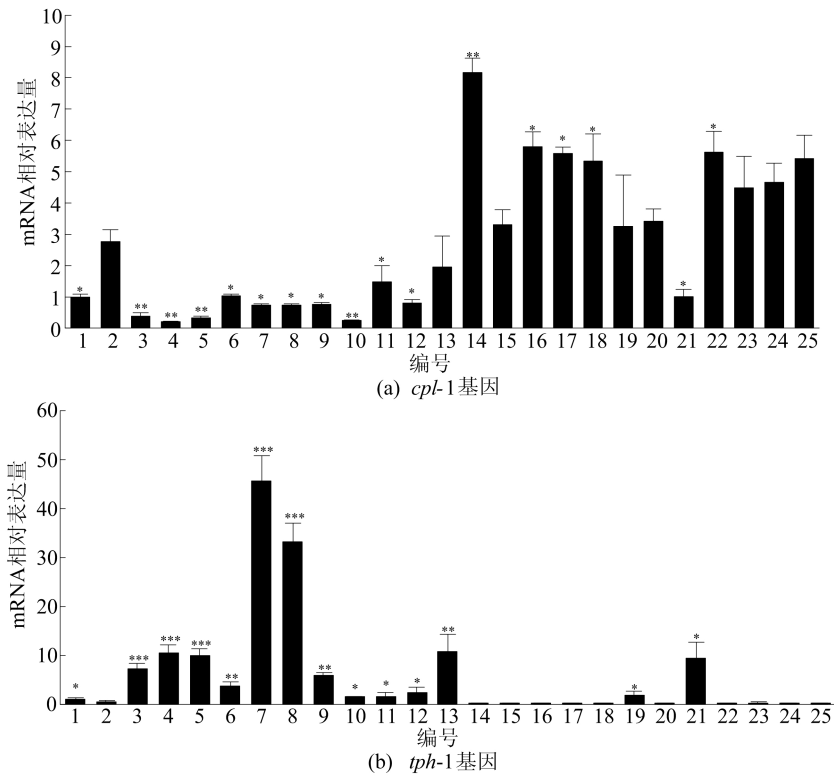


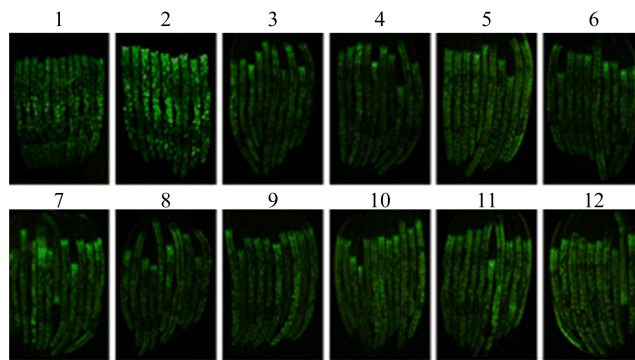
图 1 天然化合物处理后线虫体内 *cpl-1* 和 *tph-1* 基因表达

从图 1 可以看出:相对于 DMSO 对照组, 1 mmol/L 葡萄糖处理可以显著增加线虫体内 *cpl-1* 基因表达,降低 *tph-1* 基因表达;各种天然化合物处理组中,多种化合物处理后显著降低线虫 *cpl-1* 基因表达,而增加 *tph-1* 基因表达。此外,具有降低 *cpl-1* 表达和增加 *tph-1* 表达的化合物均为黄酮类化合物及其衍生物。

### 2.2 黄酮类化合物对线虫脂肪沉积的影响

木犀草素、槲皮素、白杨素、芹菜素、葛根、山奈酚、杨梅素、黄芩素、橙皮素、柚皮素等黄酮类化合物及其衍生物具有显著的降低线虫 *cpl-1* 基因表

达,同时增加 *tph-1* 基因表达的作用,由此推测这些化合物可能具有通过 CPL-1-5-HT 信号调控线虫脂肪沉积的功能。为了验证这一推论,本文利用上述黄酮类化合物处理脂滴结合蛋白 DHS-3 标记绿色荧光线虫 DHS-3::GFP,检测其体内的绿色荧光表达水平,以此研究黄酮类化合物调控脂肪沉积的作用,如图 2 所示。由图 2 可知, 1 mmol/L 葡萄糖处理可以显著增加线虫体内 DHS-3::GFP 的表达,即显著增加其脂肪沉积;而本文中所使用的 10 种黄酮类化合物均具有降低葡萄糖诱导线虫脂肪沉积增加的作用。



(a) DHS-3::GFP 荧光图片

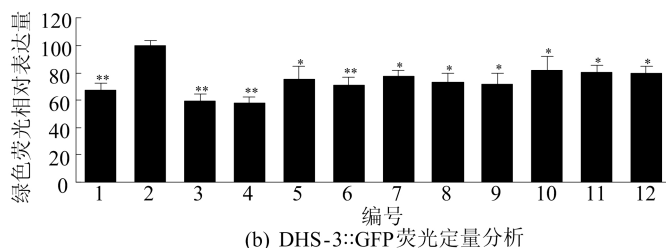
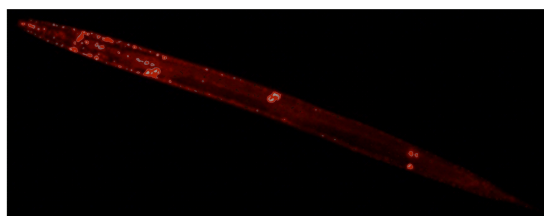


图 2 黄酮类化合物处理后线虫 DHS-3::GFP 表达及其定量分析

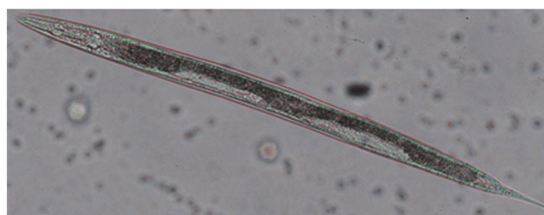
### 2.3 双荧光线虫杂交

在线虫中,通过基因缺失或 RNA 干扰抑制 CPL-1 表达可以显著增加神经系统 5-HT 含量,促进外周储脂组织中的脂肪酸氧化,降低线虫脂肪沉积<sup>[15]</sup>。根据此前的研究发现,上述黄酮类化合物的处理可以显著降低 *cpl-1* 的基因表达,而同时增加 5-HT 合成关键基因 *tph-1* 的基因表达。此外本文在验证了这些黄酮类化合物处理后,线虫的脂肪沉积显著降低,推测这些黄酮类化合物可能通过 CPL-1-5-HT 信号调控线虫脂肪沉积的作用,而该作用可能依赖于这些化合物中相似的 2-苯基色原酮骨架结构。为了进一步确定这一信号在线虫体内的作用以及靶向该信号的化合物结构特征,本文在线虫中构建了同时表达红色荧光标记的 CPL-1 蛋白和绿色荧光标记的 TPH-1 蛋白线虫,用于快速大规模筛选特定靶向该信号的降脂化合物。

本文将可激发红色荧光的 CPL-1::mChOint 表达线虫与可激发绿色荧光的 TPH-1::GFP 表达线虫进行杂交,建立双荧光表达系统,即 CPL-1::mChOint;TPH-1::GFP 线虫。已有研究显示,CPL-1 是定位于溶酶体中的一个广泛表达的蛋白,其表达方式如图 3 所示。



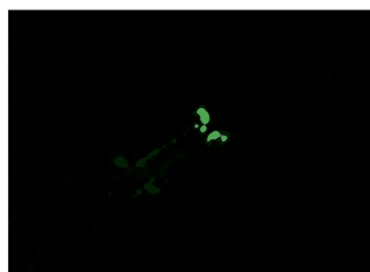
(a) CPL-1::mChOint



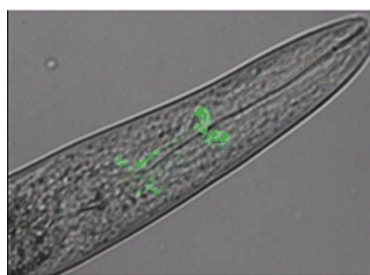
(b) 明场

图 3 CPL-1::mChOint 在线虫体内的表达情况

TPH-1 是线虫体内 5-HT 合成的关键限速酶,只在几个特定的神经元中表达<sup>[16]</sup>,包括头部感应神经元 ADF、咽部神经元 NSM 和雌雄同体特异性神经元 HSN,具体表达模式情况如图 4 所示。



(a) TPH-1::GFP

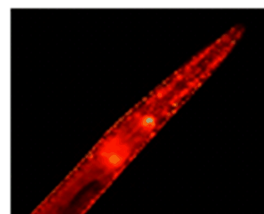


(b) 明场

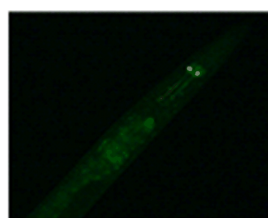
图 4 TPH-1::GFP 在线虫体内的表达情况

利用上述 2 种荧光线虫,本文通过杂交、筛选得到了同时表达 CPL-1 红色荧光和 TPH-1 绿色荧光线虫 CPL-1::mChOint;TPH-1::GFP,杂交后的荧光表达如图 5 所示。

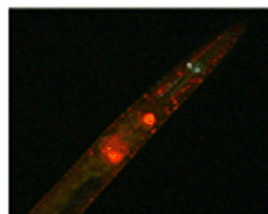
本文在线虫中构建了一种 CPL-1::mChOint;TPH-1::GFP 双荧光表达模型,可用于快速鉴定筛选靶向 CPL-1-5-HT 信号通路的降脂化合物。



(a) CPL-1::mChOint



(b) TPH-1::GFP



(c) merge

图 5 线虫杂交后荧光表达

### 3 结 论

在线虫中,抑制外周 CPL-1 可以通过促进中枢神经系统 5-HT 信号,降低体内脂肪沉积。在此理论基础上,本文发现多种黄酮类化合物具有降低线虫 *cpl-1* 基因表达,同时增加 *tph-1* 基因表达的作用,此外降低了葡萄糖诱导的 DHS-3::GFP 的表达,即降低线虫脂肪沉积的作用。结果表明,黄酮类化合物具有通过 CPL-1-5-HT 信号调控线虫脂肪沉积的作用。

黄酮类化合物具有相同的基本母核 2-苯基色原酮结构,是 2 个具有酚羟基的苯环通过中央 3 个碳原子相互连结而成。由本文的研究推测,这一基本母核结构可能决定了这些化合物具有通过 CPL-1-5-HT 信号调控线虫脂肪沉积的作用。然而不同黄酮类物质降低脂肪沉积的作用存在差异,这是由各种黄酮化合物中的羟基数量以及结构决定的。因此,本文利用线虫建立了一种 CPL-1::mChOint; TPH-1::GFP 双荧光表达模型,用以快速鉴定筛选特定靶向的降脂化合物。

### [参 考 文 献]

- [1] KOLB R, SUTTERWALA F S, ZHANG W. Obesity and cancer: inflammation bridges the two[J]. *Current Opinion in Pharmacology*, 2016, 29: 77-89.
- [2] CARBONE S, LAVIE C J, ELAGIZI A, et al. The impact of obesity in heart failure[J]. *Cardiology Clinics*, 2022, 40(2): 209-218.
- [3] RUBIO-TOMAS T, RUEDA-ROBLES A, PLAZA-DIAZ J, et al. Nutrition and cellular senescence in obesity-related disorders[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2022,

99:108861.

- [4] SRINIVASAN S. Regulation of body fat in *C. elegans*[J]. *Annual Review of Physiology*, 2015, 77: 161-178.
- [5] ASHRAFI K. Obesity and the regulation of fat metabolism[J]. *WormBook*, 2007, 9: 1-20.
- [6] O'ROURKE E J, SOUKAS A A, CARR C E, et al. *C. elegans* major fats are stored in vesicles distinct from lysosome-related organelles[J]. *Cell Metabolism*, 2009, 10(5): 430-435.
- [7] LI X, LI Y, JIANG M, et al. Quantitative imaging of lipid synthesis and lipolysis dynamics in *Caenorhabditis elegans* by stimulated raman scattering microscopy[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(3): 2279-2287.
- [8] ZHANG P, NA H, LIU Z, et al. Proteomic study and marker protein identification of *Caenorhabditis elegans* lipid droplets[J]. *Molecular and Cellular Proteomics*, 2012, 11(8): 317-328.
- [9] NA H, ZHANG P, CHEN Y, et al. Identification of lipid droplet structure-like/resident proteins in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(10 Pt A): 2481-2491.
- [10] ZHENG J, GREENWAY F L. *Caenorhabditis elegans* as a model for obesity research[J]. *International Journal of Obesity (Lond)*, 2012, 36(2): 186-194.
- [11] ARANAZ P, PENA A, VETTORAZZI A, et al. *Gri foia frondosa* (Maitake) extract reduces fat accumulation and improves health span in *C. elegans* through the DAF-16/FOXO and SKN-1/NRF2 signaling pathways[J]. *Nutrients* 2021, 13(11): 3968.
- [12] NARASIMHAN S D, YEN K, BANSAL A, et al. PDP-1 links the TGF- $\beta$  and IIS pathways to regulate longevity, development, and metabolism[J]. *PLoS Genetics*, 2011, 7(4): e1001377.
- [13] LIN Y, YANG N, BAO B, et al. Luteolin reduces fat storage in *Caenorhabditis elegans* by promoting the central serotonin pathway[J]. *Food and Function*, 2020, 11(1): 730-740.
- [14] YANG M, ZHANG Y, PAN J, et al. *Cathepsin L* activity controls adipogenesis and glucose tolerance[J]. *Nature Cell Biology*, 2007, 9(8): 970-977.
- [15] LIN Y, BAO B, YIN H, et al. Peripheral cathepsin L inhibition induces fat loss in *C. elegans* and mice through promoting central serotonin synthesis[J]. *BMC Biology*, 2019, 17(1): 93.
- [16] NOBLE T, STIEGLITZ J, SRINIVASAN S, et al. An integrated serotonin and octopamine neuronal circuit directs the release of an endocrine signal to control *C. elegans* body fat[J]. *Cell Metabolism*, 2013, 18(5): 672-684.

(责任编辑 闫杏丽)