

缩泉益肾方对秀丽隐杆线虫的降脂作用及机制研究

邵恩茜^{1*}, 庄燕苹^{2*}, 张钰明¹, 陈小凡¹, 唐昕¹, 刘洋¹, 陈柏岑³, 肖曼³, 杨帆^{1#}, 谢毅强^{1#}

¹海南医科大学中医学院, 海南 海口

²海南医科大学衰老与肿瘤国际研究中心, 海南 海口

³海南医科大学基础医学院, 海南 海口

收稿日期: 2024年4月18日; 录用日期: 2024年6月17日; 发布日期: 2024年6月25日

摘要

目的: 以N2野生型秀丽隐杆线虫为研究对象, 探究缩泉益肾方(SQYSP)对线虫脂质代谢的影响及作用机制。方法: SQYSP以醇提和水提两种不同方式提取, 并分别以20、50、100 $\mu\text{g/mL}$ 的剂量作用于秀丽隐杆线虫, 观察SQYSP对线虫运动能力和生殖能力的影响。采用油红O染色法对线虫肠道脂滴进行染色, 观察线虫体内脂肪沉积的变化; 同时, 通过RT-PCR检测线虫体内与脂质代谢相关基因skn-1、sbq-1、fasn-1、fat-7的表达水平。结果: SQYSP醇提物在50 $\mu\text{g/mL}$ 和100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下均可以提高线虫寿命($P < 0.05$, $P < 0.001$), SQYSP水提物仅在100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下提高线虫寿命($P < 0.01$)。此外, 两种提取物在100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下均可以提高线虫的身体弯曲频率($P < 0.01$, $P < 0.05$)。油红O实验中, 高浓度SQYSP醇提物和水提物均可以改善线虫体内的脂质堆积情况($P < 0.001$, $P < 0.001$), 且RT-PCR实验显示, 两种提取物均可以提高skn-1和降低sbq-1、fasn-1、fat-7的表达量($P < 0.01$)。结论: SQYSP的醇提物和水提物在不损害线虫正常生理功能的情况下, 对秀丽隐杆线虫有降脂的作用, 其作用机制可能与skn-1、sbq-1、fasn-1和fat-7的调节有关。

关键词

秀丽隐杆线虫, 缩泉益肾方, 降脂

Study on the Lipid-Lowering Effect and Mechanism of Suoquan Yishen Prescription on *Caenorhabditis elegans*

*共同第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 邵恩茜, 庄燕苹, 张钰明, 陈小凡, 唐昕, 刘洋, 陈柏岑, 肖曼, 杨帆, 谢毅强. 缩泉益肾方对秀丽隐杆线虫的降脂作用及机制研究[J]. 中医学, 2024, 13(6): 1257-1266. DOI: 10.12677/tcm.2024.136191

Enqian Shao^{1*}, Yanping Zhuang^{2*}, Yuming Zhang¹, Xiaofan Chen¹, Xin Tang¹, Yang Liu¹, Bocen Chen³, Man Xiao³, Fan Yang^{1#}, Yiqiang Xie^{1#}

¹College of Traditional Chinese Medicine, Hainan Medical University, Haikou Hainan

²International Research Center on Aging and Oncology, Hainan Medical University, Haikou Hainan

³Basic Medicine School, Hainan Medical University, Haikou Hainan

Received: Apr. 18th, 2024; accepted: Jun. 17th, 2024; published: Jun. 25th, 2024

Abstract

Objective: To study the effect of Suoquan Yishen Prescription (SQYSP) on lipid metabolism of N2 wild type *Caenorhabditis elegans* and its possible mechanism. **Methods:** SQYSP was extracted by ethanol and water, and then administered to *Caenorhabditis elegans* at different concentrations (20, 50, 100 µg/mL) to observe the effects of drugs on the motor ability and reproductive ability of nematodes. The changes of lipid content in *Caenorhabditis elegans* were determined by oil red O staining. The expression levels of *skn-1*, *sbq-1*, *fasn-1* and *fat-7* genes in *Caenorhabditis elegans* were detected by RT-PCR. **Results:** SQYSP alcoholic extracts improved *Caenorhabditis elegans* lifespan at both 50 µg/mL and 100 µg/mL concentrations ($P < 0.05$, $P < 0.001$), and SQYSP aqueous extracts improved nematode lifespan only at 100 µg/mL concentration ($P < 0.01$). In addition, both extracts could increase nematode body bending frequency ($P < 0.01$, $P < 0.05$). In the oil red O experiments, both alcoholic and aqueous extracts of SQYSP at high concentrations could improve the lipid accumulation in the nematode body ($P < 0.001$, $P < 0.001$), and the RT-PCR experiments showed that both extracts could increase the expression of *skn-1* and decrease the expression of *sbq-1*, *fasn-1*, and *fat-7* ($P < 0.01$). **Conclusion:** SQYSP has a lipid-lowering effect on *Caenorhabditis elegans* without damaging the normal physiological function of nematodes. Its mechanism may be related to the regulation of *skn-1*, *sbq-1*, *fasn-1* and *fat-7*.

Keywords

Caenorhabditis elegans, Suoquan Yishen Prescription, Lipid-Lowering

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

《黄帝内经》中记载：“脂者，食之不化者也；膏者，食之不运者也。”《诸病源候论》亦言“膏粱之疾，则脂液留滞，留滞则湿盛，湿盛则生痰”。在中医理论体系中，学者们对脂质代谢异常的病机具有不同的认识，但基本都以“本虚标实”、“虚实夹杂”为核心[1]-[4]，即肝失疏泄、脾失健运、肾气亏虚为本，痰浊瘀血为标。

益智仁属药食同源，具有温脾止泻摄涎，暖肾缩尿固精之功[5]。本团队在前期研究中发现[6] [7]，益智仁乙醇提取物可有效延缓 N2 野生型秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*, *C. elegans*)的衰老，并可改善 *C. elegans* 体内肠道脂类物质的沉积情况。随后，本团队以我国四大南药之一——益智仁为君药，研发出具有地域特色的专利方剂——缩泉益肾方[8] (Suoquan Yishen Prescription, SQYSP)。该方以益智仁、

乌药、赤芍、苍术、丹参、天花粉、茯苓为组成成分, 君臣佐使俱全, 配伍严谨, 具有温化肾气、温补肾阳、化瘀活血之功[8] [9] [10]。在动物实验中[8] [11], SQYSP 可有效降低糖尿病肾病小鼠的血糖和甘油三脂含量。此外, 多项研究表明[12]-[19], SQYSP 中的乌药、赤芍、丹参、天花粉、茯苓等多数中药具有降脂、降糖、抗氧化等作用, 可能在一定程度上协同益智仁调节脂质代谢。

目前, 研究发现[20] [21] [22], *C. elegans* 的基因与人类基因高度同源, 线虫体内参与脂质合成和代谢的机制可与人体联系, 能够作为功效成分降脂作用的评价模型。因此, 本研究拟在前期研究的基础上, 以 N2 野生型线虫为模式生物, 深入探讨 SQYSP 对脂质代谢的影响及相关作用机制, 为 SQYSP 的进一步研究提供数据支持。

2. 材料与方法

2.1. 实验动物

N2 野生型线虫由昆明植物研究所罗怀容教授课题组。

2.2. 实验仪器

S219030537Motic 显微镜(北京普瑞赛司仪器有限公司); LDZF-50L-II 高压蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂); SCILOGEX 离心机(美国塞洛捷克公司); PTX-FA210S 电子天平(福州华志科学仪器有限公司); LHS-250HC-1 恒温恒湿箱(海南光威科技有限公司)。

2.3. 药品与试剂

缩泉益肾方(海南海口龙昆南北京同仁堂店); 大肠杆菌(*Escherichia coli* OP50, OP50)来源与 1.1 相同。琼脂粉(sigma-Aldrich 公司); 油红 O 染液(南京建成生物工程研究所); 实时荧光定量 PCR 试剂盒(YEASEN 公司)。

2.4. SQYSP 提取物的制备

缩泉益肾方处方为: 盐益智仁 10 g、乌药 10 g、赤芍 10 g、天花粉 10 g、麸炒苍术 10 g、丹参 15 g、茯苓 15 g。

2.4.1. 乙醇提取物

80 g SQYSP 干品粉碎, 过 40 目筛, 在 80℃ 用 70% 乙醇溶液加热回流提取两次, 料液比 1:30 g/mL, 每次 2 h, 合并滤液, 滤液浓缩并烘干, 得到 25.38 g 乙醇提取物净膏, 4℃ 冷藏保存[23]。

2.4.2. 水提取物

80 g SQYSP 干品粉碎, 过 40 目筛, 在 100℃ 用超纯水加热回流提取两次, 料液比 1:10 g/mL, 每次 2 h, 合并滤液, 滤液浓缩并烘干, 得到 18.30 g 水提取物净膏, 4℃ 冷藏保存[8]。

2.5. 固体培养基(Nematode Growth Medium, NGM)的制备

参考庄燕苹等[21]的方法进行制备。

2.6. 各组 NGM 的制备

SQYSP 乙醇提取物按浓度分组: 20 µg/mL (低剂量组, LD(CT))、50 µg/mL (中剂量组, MD(CT))和 100 µg/mL (高剂量组, HD(CT))。SQYSP 水提取物按浓度分组: 20 µg/mL (低剂量组, LD(ST))、50 µg/mL (中剂量组, MD(ST))和 100 µg/mL (高剂量组, HD(ST))。并设立空白对照组(BC)。参考庄燕苹等[21]的

方法制备各组 NGM。

2.7. *C. elegans* 同期化处理

参考庄燕苹等[21]的方法。

2.8. 寿命实验

N2 野生型线虫按不同提取方式和不同浓度分为 MD (CT)、HD (CT)、LD (CT)、MD (ST)、HD (ST) 和 LD (ST), 并设立 BC 组, 一共 7 组, 20 只/板, 3 板/组。参考庄燕苹等[21]的方法测定各组线虫的平均寿命, 以此分析 SQYSP 醇提物与水提物在不同浓度下对线虫平均寿命的影响。本研究发现: SQYSP 醇提物与水提物在 100 µg/mL 均显示寿命显著延长, 因此后续的实验均在高剂量浓度下进行。

2.9. 产卵实验

同期化的 L4 期 N2 线虫分为 LD (CT)、LD (ST)和 BC 组, 一共 3 组, 1 只/板, 10 板/组。参考 Herndon LA 等[22]的方法测定 SQYSP 不同提取物对 N2 线虫生殖能力的影响。

2.10. 运动实验

分组情况同 1.9, 30 只/板, 1 板/组。参考张燕芬等[24]的方法进行运动能力实验。

2.11. 油红 O 实验

用 M9 溶液(制备方法参考庄燕苹等[21]的研究)将给药 4 天的线虫冲洗进 1.5 mL Ep 管中, 清洗至少 3 次以去除 OP50。然后加入固定液, 于室温下固定 15~20 min, 清洗至少 3 次以洗去固定液。油红 O 库存液和超纯水按 3:2 的比例稀释, 用过滤器过滤, 配置成油红 O 染液。将油红 O 染液浸没线虫, 室温下染色 15 min 后清洗至少 3 次以去除染液。最后制片, 在显微镜下观察拍照。

2.12. 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)

分组同 1.9, 1000 只/板, 1 板/组。参考 Xiao M 等[6]的方法进行实验。内参基因为 cdc-42, 目的基因引物序列如表 1 所示, 相对定量公式为: $2^{-\Delta\Delta CT}$ 。

Table 1. qRT-PCR primer sequence of *Caenorhabditis elegans*

表 1. 秀丽隐杆线虫 qRT-PCR 引物序列

基因	上游引物	下游引物
cdc-42	GCGGAGTGATCGTCAATAACA	GACCCGGTAAGGGTAAGGT
skn-1	AGTGTCGGCGTTCCAGATTTTC	GTCGACGAATCTTGCGAATCA
sbq-1	GGCGGCGAAGATTGTGATTC	CGCTCGGTTTTTGGTCTTCG
fasn-1	TCGGGTCGTGTCGGGTGAAG	CCTGAGTTGTCCGTCGTCTTGTC
fat-7	CAACAGCGCTGCTCACTATT	CACCAACGGCTACAACCTGTG

2.13. 数据处理

所有实验均重复至少 3 次, 数据采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析, 多组间比较采用单因素 ANOVA 检验方法。使用 GraphPad Prism 8.0 软件绘图, 寿命实验采用 Kaplan-Meier 生存分析法处理。采用 Image J 图像软件分析油红 O 图片。实验结果以均数 ± 标准差 $\bar{x} \pm s$ 表示, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

均为差异有统计学意义。

3. 结果与分析

3.1. SQYSP 不同提取物对线虫寿命的影响

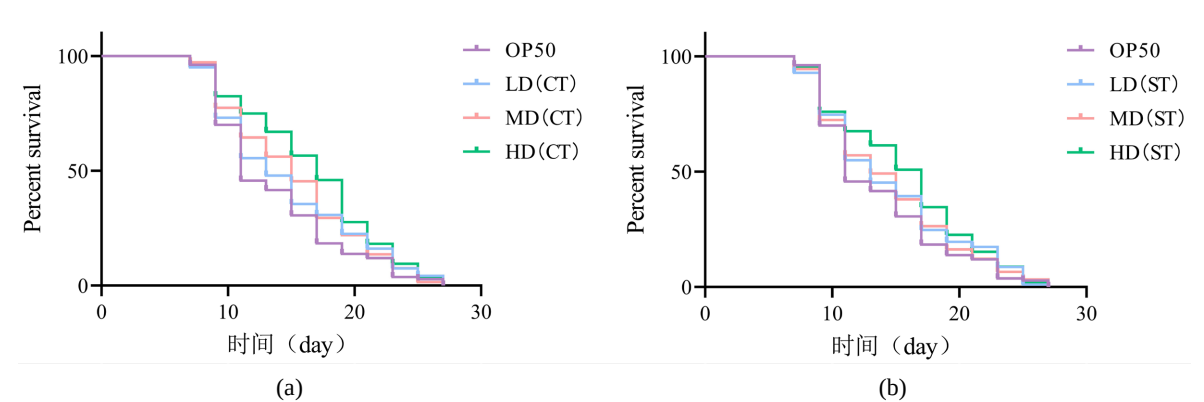
SQYSP 不同提取物在不同浓度下对 N2 线虫平均寿命的影响如图 1 和表 2 所示。BC 组的平均寿命为 13.689 d, 而 MD (CT)和 HD (CT)组的平均寿命分别为 15.297 d 和 16.662 d。与对照组相比, MD (CT)和 HD (CT)组分别延长了 11.75%和 21.72% ($P < 0.05$, $P < 0.001$), 差异有统计学意义。并且, 由图 1 可见 MD (CT)和 HD (CT)组的生存曲线向右平移, 在第 9 d 时现象较为明显; 相反, LD (CT)组的平均寿命是 14.763 d, 没有显著延缓线虫的衰老($P > 0.05$)。

在 SQYSP 水提物的研究中,LD (ST)和 MD (ST)组相比 BC 组均没有显著延长线虫的寿命($P > 0.05$), 而 HD (ST)组的平均寿命为 15.693 d, 显著延长了线虫的平均寿命($P < 0.01$)。并且, 根据图 1 可以发现, HD (ST)组在第 11 d 时生存曲线明显向右平移。实验结果表明, SQYSP 乙醇提取物和水提取物均可以延长 N2 野生型线虫的寿命,但 SQYSP 乙醇提取物需在 50 $\mu\text{g/mL}$ 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度时可以延缓线虫衰老, 而 SQYSP 水提取物仅在 100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度时可以延缓线虫衰老。

Table 2. Effects of different extracts of SQYSP on the average lifespan of N2 wild type *Caenorhabditis elegans* ($\bar{x} \pm s$)
表 2. SQYSP 不同提取物在不同浓度下对 N2 线虫平均寿命的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	平均寿命(d)
BC	13.689 $\pm$ 0.438
LD (CT)	14.763 $\pm$ 0.490 ^{ns}
MD (CT)	15.297 $\pm$ 0.429 [*]
HD (CT)	16.662 $\pm$ 0.431 ^{***}
LD (ST)	14.573 $\pm$ 0.475 ^{ns}
MD (ST)	14.516 $\pm$ 0.439 ^{ns}
HD (ST)	15.693 $\pm$ 0.438 ^{**}

注: 与 BC 组相比: “*”表示 $P < 0.05$, 差异具有统计学意义; “**”表示 $P < 0.01$, 存在显著性差异; “***”表示 $P < 0.001$, 存在极显著差异; “ns”表示 $P > 0.05$, 差异无统计学意义; 表 3 和表 4 同。



注: (a) SQYSP (CT)组; (b) SQYSP (ST)组。

Figure 1. Effects of different extracts of SQYSP on the lifespan of N2 wild type *Caenorhabditis elegans*
图 1. SQYSP 不同提取物在不同浓度下对 N2 线虫寿命的影响

3.2. SQYSP 对线虫生殖能力的影响

研究药物毒理学研究常用的指标有生殖能力和运动能力[25] [26]。如表 3 所示, BC 组的总产卵量为 30.22 只, 与 HD (CT)组相比无统计学差异($P > 0.05$)。HD (ST)组的总产卵量为 30.11 只, 与 BC 组相比总产卵量稍低, 但两组亦无显著性差异($P > 0.05$)。由此说明, 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 SQYQP 乙醇提取物和水提取物在延长 N2 野生型线虫寿命的同时对线虫的生殖能力没有毒副作用。

Table 3. Effects of different extracts of SQYSP on the reproductive capacity of *Caenorhabditis elegans* at 100 $\mu\text{g/mL}$ ($\bar{x} \pm s$)

表 3. SQYSP 不同提取物在 100 $\mu\text{g/mL}$ 下对线虫生殖能力的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	总产卵量(只)
BC	30.22 $\pm$ 49.067
HD (CT)	30.97 $\pm$ 52.951 ^{ns}
HD (ST)	30.11 $\pm$ 46.057 ^{ns}

3.3. SQYSP 对线虫运动能力的影响

随着年龄的增加, 机体的肌肉功能逐渐下降, 进而出现肌肉萎缩、运动能力下降等情况征。身体弯曲频率和头部摆动频率是线虫运动能力实验最常用的检测指标, 可通过观察这两项指标的变化来判断药物是否可以通过提高线虫的运动能力, 从而达到能量消耗、脂肪堆积减少的目的[27] [28]。如表 4 所示, BC 组身体弯曲频率为 3.88 次/20s, HD (CT)组的身体弯曲频率为 4.72 次/20s, HD (CT)组比 BC 组显著提高了 21.65% ($P < 0.01$)。此外, HD (ST)组的身体弯曲频率为 4.45 次/20s, 比 BC 组提高了 14.69% ($P < 0.05$), 两组差异有统计学意义。

BC 组的头部摆动频率为 4.85 次/min, HD (CT)和 HD (ST)组的头部摆动频率分别为 5.32 次/min 和 5.46 次/min, 两组与 BC 组相比分别增加了 9.69%和 12.58%, 但均无统计学差异($P > 0.05$)。实验结果表明, 在 100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度时, SQYQP 乙醇提取物和水提取物均可以提高线虫的身体弯曲频率, 但对线虫的头部摆动频率没有影响, 说明 SQYQP 乙醇提取物和水提取物可能是通过改善线虫的肌肉功能, 从而提高线虫的运动能力, 使得能量消耗增加、脂肪堆积减少。

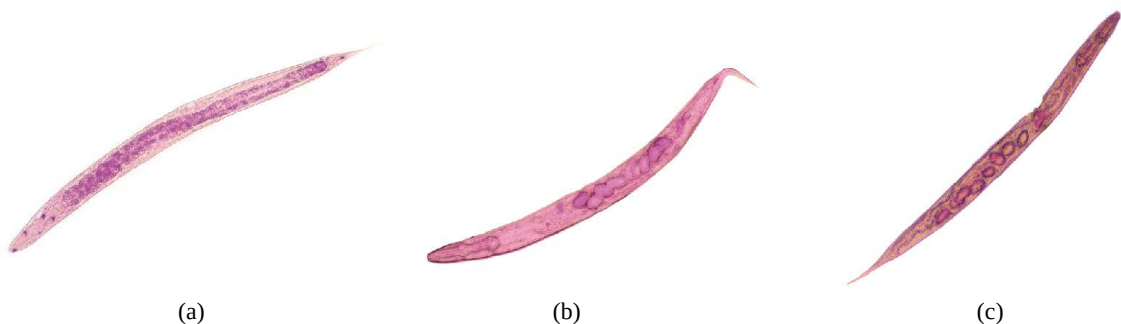
Table 4. Effects of different extracts of SQYSP on the exercise capacity of *Caenorhabditis elegans* at 100 $\mu\text{g/mL}$ ($\bar{x} \pm s$)

表 4. SQYSP 不同提取物在 100 $\mu\text{g/mL}$ 下对线虫运动能力的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	身体弯曲频率(次/20 s)	头部摆动频率(次/min)
BC	3.88 $\pm$ 2.449	4.85 $\pm$ 4.220
HD (CT)	4.72 $\pm$ 3.426 ^{**}	5.32 $\pm$ 3.684 ^{ns}
HD (ST)	4.45 $\pm$ 2.918 [*]	5.46 $\pm$ 3.966 ^{ns}

3.4. 油红 O 实验

正常情况下, *C. elegans* 的虫体透明, 但油红 O 染液可对线虫体内的脂肪滴进行特异性染色, 从而使脂肪滴呈现红色。研究人员常应用这种方法观察药物对线虫体内脂肪含量的变化情况[29], 本研究亦采用该方法观察 SQYSP 不同提取物对线虫体内脂肪含量的变化。由图 2 和图 3 所示, SQYSP 乙醇提取物和水提取物在延缓线虫衰老的同时均可以显著改善脂肪堆积的情况($P < 0.001$)。



注: (a) BC 组; (b) SQYSP(CT)组; (c) SQYSP(ST)组; 与 BC 组相比: “*”表示 $P < 0.05$, 差异具有统计学意义; “**”表示 $P < 0.01$, 存在显著性差异; “***”表示 $P < 0.001$, 存在极显著差异; “ns”表示 $P > 0.05$, 差异无统计学意义; 图 3 和图 4 同。

Figure 2. Oil red O staining of *Caenorhabditis elegans* in SQYSP groups
图 2. SQYSP 各组线虫油红 O 染色图

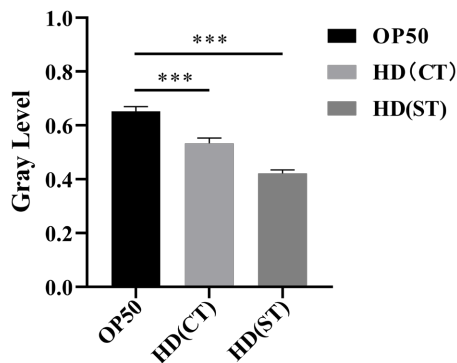


Figure 3. Effects of different extracts of SQYSP on intestinal lipid accumulation in *Caenorhabditis elegans*
图 3. SQYSP 不同提取物对线虫肠道脂质堆积情况的影响

3.5. qRT-PCR

如图 4 所示, 在 qRT-PCR 实验中, HD (CT)组与 BC 组相比可以显著上调 *skn-1* ($P < 0.001$), 下调 *sbq-1* ($P < 0.001$)、*fasn-1* ($P < 0.001$)和 *fat-7* ($P < 0.01$)的表达量; HD (ST)组亦可以上调 *skn-1* ($P < 0.01$), 下调 *sbq-1* ($P < 0.001$)、*fasn-1* ($P < 0.001$)和 *fat-7* ($P < 0.001$)的表达量。实验结果说明, SQYSP 乙醇提取物和水提取物改善线虫脂质代谢可能与 *skn-1*、*sbq-1*、*fasn-1* 和 *fat-7* 的调控有关。

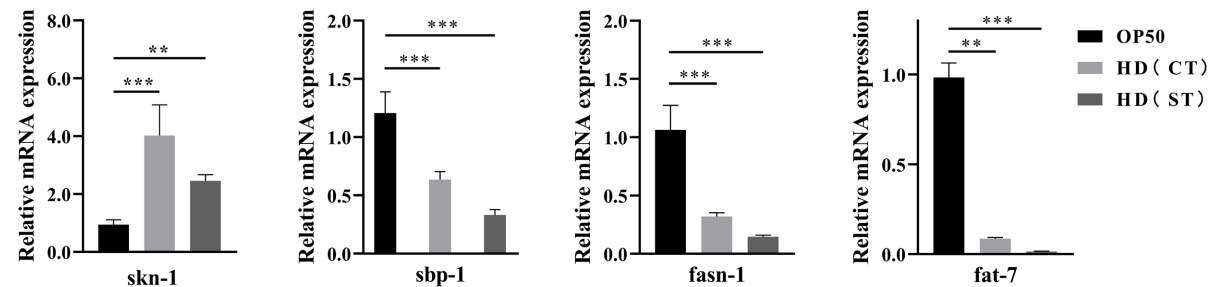


Figure 4. Effects of different extracts of SQYSP on the transcription level of lipid metabolism related genes in *Caenorhabditis elegans*
图 4. SQYSP 不同提取物对线虫脂质代谢相关基因转录水平的影响

4. 讨论

近年来, 由于饮食习惯及生活方式的改变, 肥胖患者逐年增加, 伴随出现的典型特征之一即为脂质代谢异常, 而脂质代谢异常恰是 2 型糖尿病、高脂血症、冠状动脉粥样硬化等慢性疾病的重要危险因素[30] [31]。因此, 如何有效改善脂质代谢异常是研究人员亟需解决的重点、难点。

脂质代谢异常在中医典籍中未有记载, 但按其临床症状及体征, 可归属于中医“痰浊”“血瘀”“脂浊”等范畴[32]。多数学者认为[1]-[4], 脂质代谢异常的病机以肝失疏泄、脾失健运、肾气亏虚为本, 痰浊瘀血为标。而本研究中的缩泉益肾方君臣佐使俱全, 配伍严谨, 相辅相成, 恰能针对脂质代谢异常的病机, 治以温补脾肾, 化痰活血。在动物实验中发现, 缩泉益肾方能有效降低血糖和甘油三酯的含量。例如姚宇剑等[11]通过研究发现, 给予缩泉益肾方(最佳灌胃剂量 0.01 mg/Kg) 8 周后, 缩泉益肾方组小鼠的血糖从 (30.03 ± 1.58) mmol/L 降低到 (23.21 ± 1.25) mmol/L, 而生理盐水组小鼠的血糖从 (29.92 ± 3.11) mmol/L 升高到 (32.28 ± 1.78) mmol/L; 与生理盐水小鼠组甘油三酯水平 (8.34 ± 1.33) mmol/L 相比, 该组小鼠甘油三酯的水平也显著下降, 为 (3.89 ± 1.13) mmol/L。

缩泉益肾方中的益智仁与乌药共为君药, 前者温化肾气、温补肾阳, 后者行气止痛、温肾散寒, 两者一散一收, 共同温下元、散寒邪, 使得温补脾肾、固精缩尿之功更加显著。赤芍与丹参配伍使用, 具有相须、相使之效, 可凉血化瘀, 通经活血。苍术为臣, 与赤芍、丹参一起辅助益智仁、乌药行活血化瘀止痛、燥湿健脾之功。再佐以天花粉清热生津、消肿排脓, 使病邪去之有路。最后以茯苓为使, 利水渗湿、健脾、宁心安神, 既有助于淡渗利湿行瘀, 又有助于补益脾胃之气。

众所周知, 脂肪主要储存在脂滴中, 并以脂滴为单位。脂肪的生成与分解处在动态平衡中, 需要众多基因、酶等调控[33] [34]。在秀丽隐杆线虫体内, 参与脂质代谢的通路很多[28] [29], 本研究选择与脂肪合成相关的关键基因——skn-1、fasn-1、sbp-1 和 fat-7 进行研究。

skn-1 在哺乳动物体内的同源物是转录因子 E2 相关因子 2 (Nrf-2), 是机体应答氧化应激的重要组成部分, 主要参与生物体氧化应激过程[35]。但已有研究证实[36] [37] [38], skn-1 还参与线粒体解毒、蛋白质稳态、新陈代谢等过程。Renalison FP 等[37]通过紫柳花素对秀丽隐杆线虫脂质代谢的研究证实: skn-1/Nrf 途径参与线虫的脂肪生成和脂肪酸 β -氧化的过程, 该通路可下调线虫体内 sbp-1、fasn-1 和 ech-1.1 的表达量, 从而抑制脂肪生成、干预脂肪酸 β -氧化的过程。

在脂肪合成中, 脂肪酸合酶(Fatty acid synthase, FAS)是合成饱和脂肪酰辅酶 A (脂肪酸)的关键酶, 而 FAS 在线虫体内的同源基因是 fasn-1。乙酰辅酶 A 被乙酰辅酶 A 羧化酶羧化成丙二酰辅酶 A, 随后被 FAS 生成不同长度的脂肪酸, 其中的棕榈酸可转化成甘油三酯(Triglyceride, TG), 还可以通过脂肪酸延伸酶和/或脂肪酸去饱和酶的修饰, 形成多种不饱和脂肪酸。此外, 多项研究证实[38] [39], fasn-1 的下调可改善线虫体内脂质物质的积累。

fat-7 是哺乳动物体内调控硬脂酰辅酶 A 去饱和酶(SCDs)的同源基因。在秀丽隐杆线虫体内, fat-7 可使硬脂酸去饱和, 向油酸(游离脂肪酸)转化。此外, fat-7 还可与 fat-5 和 fat-6 共同维持着饱和脂肪酸/单不饱和脂肪酸的比例平衡。肖媚方[29]、凌思凯[39]、吉鑫[40]等人的研究均证实: 部分降脂类物质可通过调控 fat-7 起到降低脂肪沉积的作用, 可见 fat-7 通路对脂质代谢的调节具有一定意义。

sbp-1 在哺乳动物体内的同源物是固醇元件结合蛋白(SREBPs), 可通过调控 SCDs 和其它脂肪合成基因, 从而起到调节脂肪酸合成和脂质平衡的关键作用。在秀丽隐杆线虫体内, sbp-1 可直接或间接诱导下游的 fasn-1、fat-7、pod-2 等基因来促进脂质合成[34] [38]。宁丽娜[38]等人研究发现: 重组荞麦胰蛋白酶抑制剂可通过调控 sbp-1 来影响 pod-2 和 fasn-1 的表达量, 进而出现脂肪酸合成减少的情况。

由此我们可以发现, skn-1、fasn-1、sbp-1 和 fat-7 之间的关系如图 5 所示。skn-1 可通过调控 sbp-1

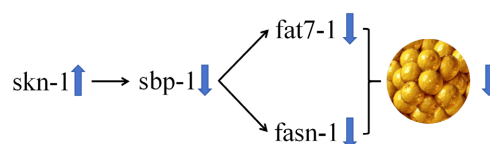


Figure 5. The relationship between skn-1, fasn-1, sbp-1 and fat-7

图 5. skn-1、fasn-1、sbp-1 和 fat-7 之间的关系

来直接或间接地影响 fasn-1 和 fat-7 的表达, 进而影响线虫体内脂质堆积的情况。基于此, 本研究探究缩泉益肾方乙醇提取物和水提物对秀丽隐杆线虫的降脂作用, 及作用机制是否与 skn-1、fasn-1、sbp-1 和 fat-7 的调控有关。研究发现, 缩泉益肾方乙醇提取物和水提物均可以延缓秀丽隐杆线虫的衰老, 并能有效改善线虫体内的脂质堆积情况, 其作用机制可能与脂肪合成相关基因 skn-1、fasn-1、sbp-1 和 fat-7 的调节有关。

基金项目

海南医学院大学生创新创业项目(X202211810012)。

参考文献

- [1] 雷义举. 中医辨证治疗高脂血症 82 例[J]. 陕西中医, 2002, 23(6): 507-508.
- [2] 朱黎霞, 梁东辉, 刘永源. 中医辨证治疗高脂血症 120 例临床疗效观察[J]. 临床医学工程, 2010, 17(10): 115-116.
- [3] 梁月仙. 高脂血症的中医辨证治疗[J]. 中国民间疗法, 2014, 22(6): 39.
- [4] 孙悦, 马国庆. 中医治疗高脂血症的研究概况[J]. 中国民族民间医药, 2023, 32(4): 55-58.
- [5] 郭曼萍, 赵俊男, 施伟丽, 等. 益智仁改善认知障碍的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(18): 2778-2783.
- [6] Xiao, M., Chen, B., Niu, K., et al. (2022) *Alpiniae oxyphylla* Fructus Extract Promotes Longevity and Stress Resistance of *C. elegans* via DAF-16 and SKN-1. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, Article 1034515.
- [7] 杨帆, 肖曼, 陈柏岑, 等. 益智仁提取物延缓秀丽隐杆线虫衰老的研究[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(2): 43-46, 265.
- [8] 谢毅强, 尹德辉, 黄凌, 等. 一种用于治疗糖尿病肾病的中药组合物、中药制剂及其制备方法[P]. 中国专利, CN105878894B. 2017-05-31.
- [9] 尹德辉, 朱叶, 倪雅丽, 等. 缩泉益肾方治疗 2 型糖尿病肾病的临床疗效[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(9): 2091-2092.
- [10] 牛坤, 姚宇剑, 黄凌, 等. 缩泉益肾方对糖尿病肾病小鼠的保护作用[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(8): 1885-1887.
- [11] 姚宇剑, 武素, 倪雅丽, 等. 缩泉益肾方对 db-/db-小鼠的肠道菌群影响的研究[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(2): 291-294.
- [12] 陈卓亮, 王军伟, 谭明明, 等. 乌药不同提取部位对大鼠急性酒精性肝损伤的保护作用研究[J]. 浙江中医杂志, 2014, 49(7): 538-539.
- [13] 丁早春, 金祖汉. 乌药对小鼠免疫功能及大鼠实验性脂肪肝的影响[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(5): 535-538.
- [14] 梁日欣, 黄璐琦, 刘菊福, 等. 药对川芎和赤芍对高脂血症大鼠降脂、抗氧化及血管内皮功能的实验观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(1): 43-45.
- [15] 王静, 蒋杰, 李新朋, 等. 天花粉治疗糖尿病物质基础及作用机制研究进展[J]. 药学研究, 2021, 40(10): 684-686, 697.
- [16] 袁媛, 黄璐琦, 闫寒, 等. 苍术毛状根的诱导及其化学成分组成分析[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(22): 2430-2431.
- [17] 尹倚艰. 祛湿化浊通心方对老年血脂代谢异常的干预研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国中医科学院, 2012.

- [18] 韦伟, 轩妍, 黄晓燕. 茯苓多糖对营养性肥胖幼鼠的降脂和肠道菌群调节作用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(10): 35-43.
- [19] Li, X., He, Y., Zeng, P., Liu, Y., Zhang, M., Hao, C., *et al.* (2018) Molecular Basis for *Poria cocos* Mushroom Polysaccharide Used as an Antitumour Drug in China. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **23**, 4-20. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13564>
- [20] 李璐. 转录因子 NRF2 在高脂肪饮食诱导脂肪肝中的作用及其机制研究[D]: [博士学位论文]. 沈阳: 中国医科大学, 2020.
- [21] 庄燕苹, 杨帆, 肖曼, 等. 忧遁草乙醇提取物对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用及机制[J]. 食品工业科技, 2023, 44(11): 411-417.
- [22] Herndon, L.A., Wolkow, C.A., Driscoll, M., *et al.* (2017) Effects of Ageing on the Basic Biology and Anatomy of *C. elegans*. In: Olsen, A. and Gill, M., Eds., *Ageing: Lessons from C. elegans*, Springer, 9-39.
- [23] 袁玲玲, 丁丽娜, 钱如贵, 等. 保元汤提取工艺研究[J]. 云南中医中药杂志, 2020, 41(11): 66-70.
- [24] 张燕芬, 王大勇. 利用模式动物秀丽线虫建立环境毒物毒性的评估研究体系[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(4): 313-322.
- [25] 周栋. 内分泌干扰物双酚 A 对秀丽隐杆线虫的生态毒性效应及其作用机制研究[D]: [博士学位论文]. 上海: 华东理工大学, 2016.
- [26] 李煜, 敬海明, 李国君. 秀丽隐杆线虫神经毒理学研究进展[J]. 中国公共卫生, 2013, 29(4): 622-624.
- [27] 贾董浩, 周心雨, 詹恩琪, 等. 苦瓜多糖和皂苷对秀丽隐杆线虫脂代谢的调节作用[J]. 粮食与食品工业, 2023, 30(5): 28-32.
- [28] 邢运翰. 红曲色素对秀丽隐杆线虫脂肪代谢的研究及应用[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津科技大学, 2022.
- [29] 肖崑方, 陈欣彤, 蔡雯雯, 等. 竹荪水提物抗氧化及改善秀丽隐杆线虫脂质代谢作用[J]. 食品科学, 2022, 43(19): 191-199.
- [30] 刘英语, 吴西芝, 张冠亚. 食源性多糖缓解脂质代谢异常的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(17): 210-217.
- [31] 王勇, 王存川, 朱晒红, 等. 中国肥胖及 2 型糖尿病外科治疗指南(2019 版) [J]. 中国实用外科杂志, 2019, 39(4): 301-306.
- [32] 潘梓珊, 李东玲, 冯敏瑶, 等. 补肾健脾方治疗 2 型糖尿病合并血脂异常患者的疗效及对脂联素的影响研究[J]. 广州中医药大学学报, 2024, 41(1): 54-61.
- [33] 张淑妍, 杜雅兰, 汪洋, 等. 脂滴——细胞脂类代谢的细胞器[J]. 生物物理学报, 2010, 26(2): 97-105.
- [34] Shen, P., Yue, Y. and Park, Y. (2017) A Living Model for Obesity and Aging Research: *Caenorhabditis elegans*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **58**, 741-754. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1220914>
- [35] 吴浩. Src 酪氨酸蛋白激酶抑制剂对 AD 秀丽隐杆线虫 A β 毒性作用的研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [36] An, J.H. and Blackwell, T.K. (2003) SKN-1 Links *C. elegans* mesodermal Specification to a Conserved Oxidative Stress Response. *Genes & Development*, **17**, 1882-1893. <https://doi.org/10.1101/gad.1107803>
- [37] Farias-Pereira, R., Zhang, Z., Park, C., Kim, D., Kim, K. and Park, Y. (2020) Butein Inhibits Lipogenesis in *Caenorhabditis elegans*. *BioFactors*, **46**, 777-787. <https://doi.org/10.1002/biof.1667>
- [38] 宁丽娜. 重组芥麦胰蛋白酶抑制剂降低 *C.elegans* 脂肪积累机制[D]: [硕士学位论文]. 太原: 山西大学, 2020.
- [39] 凌思凯. 基于秀丽隐杆线虫的抗脂肪堆积益生菌筛选及四株新物种鉴定[D]: [硕士学位论文]. 济南: 山东大学, 2017.
- [40] 吉鑫. 绿茶主要组分对线虫脂质代谢的影响及机制[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2019.