

人参皂苷对果蝇高糖模型糖脂代谢的调节作用

李晓野¹, 杨志², 尤思曼², 闫慧琪², 武静², 王凯璐², 王金龙², 孙海明³

(1. 吉林市中心医院, 吉林 吉林 132011; 2. 北华大学理学院, 吉林 吉林 132013;

3. 北华大学药学院, 吉林 吉林 132013)

摘要:目的 探讨人参皂苷对处于高糖环境中的果蝇糖脂代谢的调节作用。方法 将待测果蝇分为对照组(正常果蝇喂食普通培养基)、高糖模型组(正常果蝇喂食高糖培养基)、人参皂苷低剂量给药组(0.5%的人参皂苷培养基)、人参皂苷中剂量给药组(1.25%的人参皂苷培养基)、人参皂苷高剂量给药组(2.5%的人参皂苷培养基)、阳性药物组(高糖环境下的果蝇喂食含浓度为0.2%的二甲双胍培养基)。培养7 d后对6组果蝇体内海藻糖、甘油三酯的含量以及体质量、体长、翅面积进行比较。结果 与对照组比较,高糖模型组果蝇体内海藻糖、甘油三酯含量显著上升($P < 0.05$);与高糖模型组比较,各剂量人参皂苷给药组、阳性药物组果蝇体内海藻糖和甘油三酯含量显著下降($P < 0.05$)。结论 人参皂苷对处于高糖环境中的果蝇具有保护作用,可缓解在高糖环境下所引起的糖脂代谢紊乱情况。

关键词:人参皂苷;果蝇;糖脂代谢;高糖诱导

中图分类号:R285

文献标志码:A

Regulation of Ginsenosides on Glucose and Lipid Metabolism in *Drosophila melanogaster* High Glucose Model

LI Xiaoye¹, YANG Zhi², YOU Siman², YAN Huiqi², WU Jing², WANG Kailu²,
WANG Jinlong², SUN Haiming³

(1. Center Hospital in Jilin City, Jilin 132011, China; 2. Science College of Beihua University, Jilin 132013, China;

3. Pharmacy College of Beihua University, Jilin 132013, China)

Abstract: **Objective** To explore the regulation of ginsenosides on glucose and lipid metabolism of *Drosophila melanogaster* in high glucose environment. **Method** Flies were divided into control group (normal flies feeding common medium), high sugar model group (normal flies fed high sugar medium), high, medium and low dose of ginsenoside group (*Drosophila melanogaster* fed ginseng saponin culture medium with concentration of 2.5%, 1.25% and 0.5% in high sugar environment), positive drug group (*Drosophila melanogaster* in high glucose environment was fed with metformin medium containing 0.2% concentration). After 7 days of culture, the contents of trehalose and triglyceride, body weight, body length and wing area of the six groups were detected and compared. **Results** Compared with the control group, the contents of trehalose and triglyceride in flies in the high-glucose model group were significantly increased; Compared with the high glucose model group, the contents of trehalose and triglyceride in flies in the positive drug group and ginsenoside administration groups were significantly decreased. **Conclusion** Ginsenosides can protect *Drosophila melanogaster* in high glucose environment and alleviate the disorder of glucose and lipid metabolism caused by high glucose environment.

Key words: Ginsenoside; *Drosophila melanogaster*; glucose and lipid metabolism; high sugar induced

收稿日期:2022-06-10

基金项目:吉林省科技发展计划项目(20210101032JC).

作者简介:李晓野(1978—),女,主管药师,主要从事临床药物合理应用研究,E-mail:657115753@qq.com;通信作者:孙海明(1979—),男,博士,教授,硕士生导师,主要从事中药生物技术及微生物多样性研究,E-mail:sunhaiming@beihua.edu.cn.

人参(*Ginseng*)为伞形目五加科人参属多年生草本植物,其主要药理作用来自人参皂苷。人参皂苷是从人参的根、茎、叶中提取精制而成,富含18种人参单体皂苷。人参在各种人类疾病中具有多种功效,如心血管疾病、神经元疾病、肥胖和癌症等,还能影响人体或小鼠体内的糖脂代谢,但其代谢调节作用的机制研究较少^[1]。研究^[2]发现,人参总皂苷、人参单体皂苷 Rb1、Rd、Rh1、Rh2、Rg3、CK 可增强免疫功能。孟凡丽等^[3]研究发现,在给予糖尿病小鼠人参皂苷 Rh3 28 d 后,能够检测到小鼠血清中 TC 和 TG 的含量下降, SOD 的活性显著增强,由此推测,人参皂苷 Rh3 可能具有降低糖尿病患者血糖的作用。MUSSELMAN L P 等^[4]通过建立链脲佐菌素诱导的2型糖尿病动物模型,发现人参皂苷 Rg1 可以降低2型糖尿病大鼠心肌细胞的凋亡,减轻心肌胶原蛋白的合成,从而改善心肌功能。

果蝇(*Drosophila melanogaster*)的基因背景很清晰,75%的功能基因与人类基因同源,并且有约60%的基因与人类疾病基因相关^[5]。与人类一样,果蝇体内也存在参与能量代谢和糖尿病并发症的靶器官。果蝇因其繁殖迅速、生命周期短、品系丰富且与人类基因的联系非常紧密,成为用于成分复杂的中药的活性评价与筛选的优秀模式生物。研究^[6]发现,给予果蝇高糖培养基,会使其血糖升高、体内脂肪积累、产生胰岛素抵抗,并且参与调控脂肪代谢、糖代谢相关基因的表达,这与人类的胰岛素抵抗的病理机制是一致的。因此,可以应用高糖培养基诱导建立果蝇的2型糖尿病模型。

本研究以果蝇为模式生物,通过对不同组别果蝇体内海藻糖、甘油三酯含量的检测以及体质量、体长、翅面积的测量,探讨人参皂苷对处于高糖环境中的果蝇糖脂代谢的调节作用,为人参资源价值发现和资源化利用提供参考。

1 材 料

1.1 实验动物

野生型黑腹果蝇(雄蝇)由北华大学理学院遗传实验室提供,培养条件(25±2)℃,相对湿度50%~60%,12 h/d 昼夜交替培养^[7]。实验果蝇分为对照组、高糖模型组、人参皂苷低剂量给药组(0.5%的人参皂苷培养基)、人参皂苷中剂量给药组(1.25%的人参皂苷培养基)、人参皂苷高剂量给药组(2.5%的人参皂苷培养基)、阳性药物组。幼虫从卵开始直至L3(三龄幼虫)均存活在对照培养基中,成虫从羽化开始进入高糖或给药培养基中。

1.2 仪器与药品

立式高压灭菌器(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司);高性能无菌实验台(北京东联哈尔仪器制造有限公司);球形玻璃匀浆器(金坛恒丰仪器制造有限公司);紫外可见分光光度计(岛津仪器有限公司);人工气候箱(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司);高速离心机(金坛恒丰仪器制造有限公司);电子天平(沈阳龙腾电子有限公司);海藻糖试剂盒(南京建成生物工程研究所);甘油三酯试剂盒(长春汇力生物技术有限公司);人参皂苷(白山市益康参茸有限公司);玉米粉、酵母粉、琼脂、丙酸、乙醚、蔗糖(上海源叶生物科技有限公司)。

2 实验方法

2.1 培养基的配制

培养基的配方及制作过程(以配制200 mL培养基为例)。普通培养基:①琼脂1 g、蔗糖10 g、酵母粉3 g、适量蒸馏水;②玉米粉10 g,适量蒸馏水。先将①煮沸后,再煮沸②,然后将①倒入②混合后加蒸馏水定容至刻度线,煮沸。待其冷却至60℃左右加入8滴丙酸,搅拌均匀后倒入锥形瓶中,封口,贴好标签,待高压。高压后在无菌环境下向试管中倒入1/5高度的培养基,塞上棉塞,用牛皮纸封口。

高糖培养基:在普通培养基的基础上增加蔗糖至70 g。

给药培养基:在高糖培养基的基础上添加人参皂苷或二甲双胍,按照不同浓度添加相应的药物,分别配制成人参皂苷浓度为0.5%、1.25%、2.5%和二甲双胍浓度为0.2%的培养基。为避免高压灭菌影响药物的活性,高压后待培养基温度在50~60℃范围内再加入药液,混匀。

2.2 果蝇高糖模型的建立

将羽化10 h 之内的雄性果蝇随机分组,对照组果蝇使用普通培养基培养,高糖组果蝇使用高糖培养基培养。将果蝇在高糖培养基中喂养7 d,检测其体内血糖、脂肪积累、糖脂代谢指标,建立高糖果蝇模型。

2.3 指标检测及方法

2.3.1 果蝇成虫体长及翅面积的测定

果蝇用乙醚麻醉处死,随机取10只果蝇,用镊子夹取果蝇至载玻片上,在显微镜下利用Mvlmage vt对果蝇个体和翅膀进行拍照,再通过Image J软件来测量其体长并计算翅面积^[8]。

2.3.2 果蝇成虫体质量的测定

收集果蝇,用乙醚麻醉处死,每组取10只,平行3次,装入离心管中进行称量。

2.3.3 果蝇成虫体内海藻糖含量的测定

果蝇用乙醚麻醉处死,每组取质量相等的果蝇,平行3次,称其质量后放入离心管中,于 -80°C 冻存0.5 h,然后在冰浴的条件下制成匀浆,室温静置45 min,震荡3~5次,8000 r/min,室温离心10 min后取上清液测定,测定方法按照海藻糖检测试剂盒的说明书进行操作。

2.3.4 果蝇成虫体内甘油三酯含量的测定

果蝇用乙醚麻醉处死,每组取质量相等的果蝇,平行3次,称其质量后,用生理盐水制成匀浆液,测定方法按甘油三酯检测试剂盒的说明书进行操作。

2.4 统计学分析

应用 GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc.) 对数据进行处理和统计学分析。多组间样本比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 LSD 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 实验结果与分析

3.1 高糖诱导对果蝇的影响

3.1.1 高糖诱导对果蝇成虫体长及翅面积的影响

果蝇个体大小的变化主要是受个组织器官大小的变化影响。本研究结果显示,与对照组果蝇比较,高糖组果蝇的体长减少了4.96%,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。体长分析结果见图1 a、c;与对照组果蝇比较,高糖组果蝇的翅面积减少了11.74% ($P < 0.05$)。结果见图1 b、c。

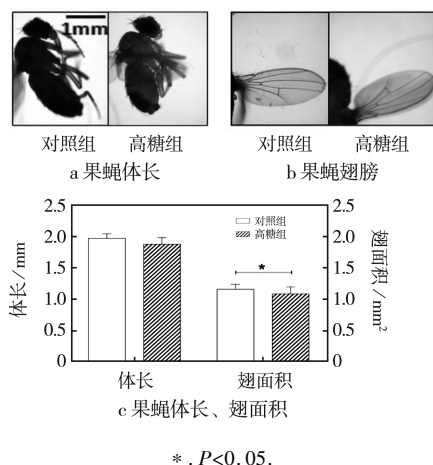


图1 不同培养基对果蝇体长、翅面积的影响

Fig. 1 Effects of different media on body length and wing area of *Drosophila melanogaster*

3.1.2 高糖诱导对果蝇成虫体质量的影响

本研究结果显示,通过高糖诱导的果蝇高糖模型组与对照组比较,高糖模型组果蝇的体质量较对照组减少了29.12% ($P < 0.01$)。结果见图2 a。

3.1.3 高糖诱导对果蝇成虫体内海藻糖含量的影响

果蝇循环体液中主要是海藻糖,测定海藻糖浓度可反映果蝇血糖水平^[9]。本研究结果显示,果蝇高糖组海藻糖含量较对照组升高了96.64% ($P < 0.05$)。结果见图2 b。

3.1.4 高糖诱导对果蝇成虫体内甘油三酯含量的影响

果蝇体内的甘油三酯含量是检验其体脂率的重要指标,测定甘油三酯含量可反映果蝇血脂水平。本研究结果显示,果蝇高糖组体内甘油三酯含量较对照组升高了153.02% ($P < 0.05$)。结果见图2 c。

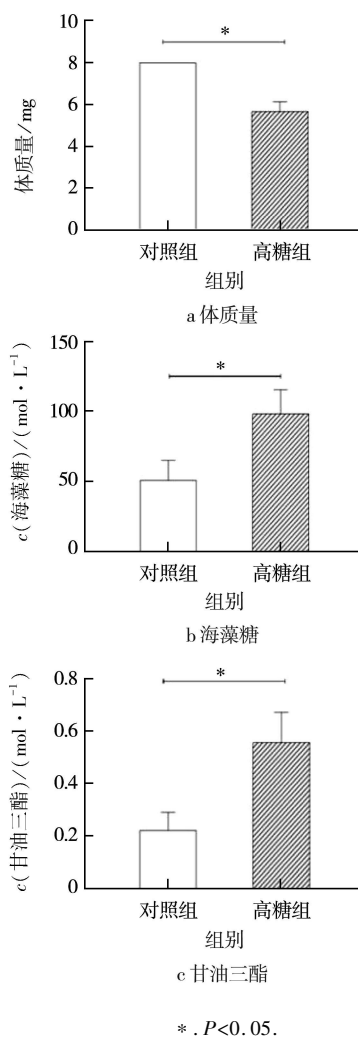


图2 不同培养基对果蝇体质量及体内海藻糖、甘油三酯含量的影响

Fig. 2 Effects of different media on the body weight and trehalose and triglyceride contents of *Drosophila melanogaster*

3.2 药物对果蝇高糖模型的影响

3.2.1 药物对果蝇成虫体长及翅面积的影响

在高糖环境下给予果蝇不同浓度的给药培养基喂食7 d,结果显示,与高糖组比较,人参皂苷高剂量给药组果蝇体长和翅面积分别增加了6.33% ($P<0.01$)、11.15% ($P<0.05$);阳性药物组药物对果蝇的体长和翅面积的影响差异均无统计学意义 ($P>0.05$). 结果见图3 a、b、c.

结合以上高糖饮食对果蝇体长、翅面积的影响,可以看出高糖饮食对果蝇体长、翅面积的影响存在一定的偶然性. 因此,体长、翅面积不能作为反应高糖模型建立是否可靠的决定性因素,可作为辅助性参考.

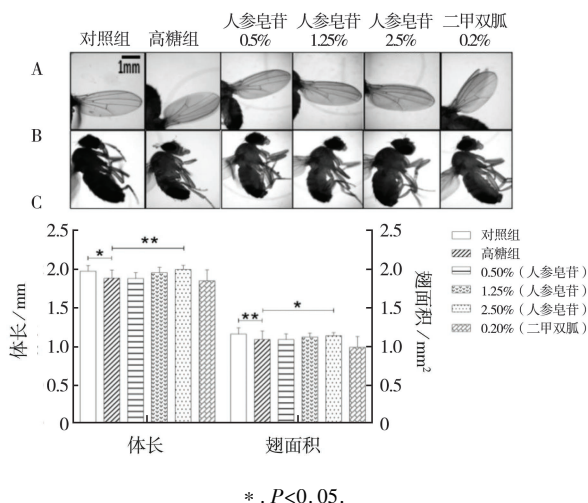


图3 不同组别果蝇体长、翅面积

Fig. 3 Body length and wing area of *Drosophila melanogaster* in different groups

3.2.2 药物对果蝇成虫体质量的影响

本研究显示,与高糖组比较,人参皂苷低、中、高剂量给药组果蝇的体质量分别增加了29.34% ($P<0.01$)、23.46% ($P<0.05$)、35.21% ($P<0.001$);阳性药物组果蝇的体质量增加了5.82%. 结果见图4 a.

3.2.3 对果蝇成虫体内海藻糖含量的影响

本研究结果显示,与高糖组比较,人参皂苷中、高剂量给药组果蝇体内海藻糖含量分别降低54.17% ($P<0.05$)、85.87% ($P<0.01$),其中人参皂苷高剂量给药组效果更显著;在阳性药物组的作用下,果蝇体内海藻糖含量降低57.37% ($P<0.05$). 结果见图4 b.

3.2.4 药物对果蝇成虫体内甘油三酯含量的影响

本研究结果显示,与高糖组比较,人参皂苷低、中、高剂量给药组和阳性药物组果蝇体内甘油三酯

含量分别降低了40.13% ($P<0.05$)、50.56% ($P<0.01$)、52.48% ($P<0.01$)、60.04% ($P<0.001$). 结果见图4 c.

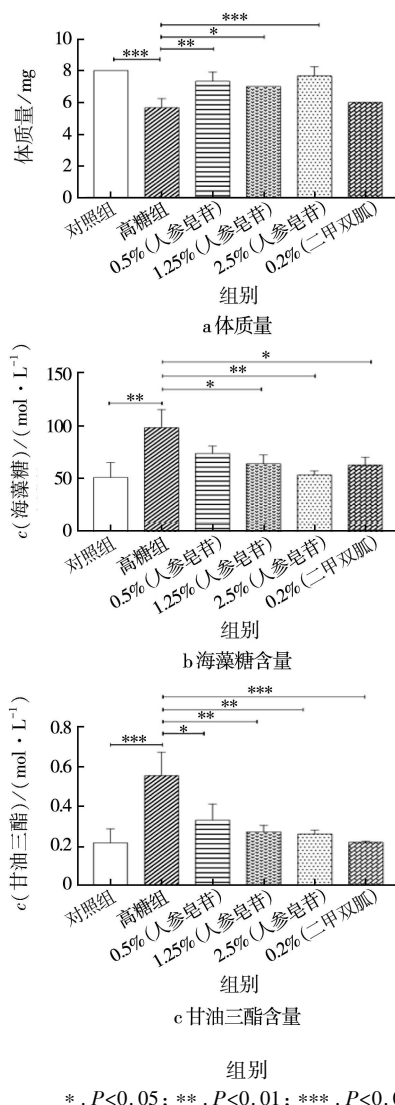


图4 不同组别果蝇体质量及体内海藻糖、甘油三酯含量
Fig. 4 Body weight and trehalose and triglyceride content of *Drosophila melanogaster* in different groups

4 讨论

4.1 高糖饮食对果蝇的影响

研究^[10]表明:胰岛素信号传导途径中部分基因功能缺失的2型糖尿病模型果蝇表现出体质量显著下降、个体减小、糖脂代谢紊乱等病症,因此,本研究设想通过对正常果蝇进行长时间喂食高糖培养基,以此建立高糖诱导的果蝇模型. 本研究结果显示,经过给予正常果蝇7 d的高糖饮食,其体内的海藻糖及甘油三酯含量均有显著性升高 ($P<0.05$),身体发育受到一定的限制,这与糖尿病的发病特征是一致的. 此外,在YU H等^[11]利用雌性

果蝇来评价高糖饮食对其糖脂代谢的影响的研究中也出现了这种现象.因此,成功诱导高糖模型为我们后续的实验研究提供了基础保障.

4.2 人参皂苷对果蝇高糖模型的影响

本研究设想对处在高糖环境中的果蝇进行喂食不同浓度的人参皂苷,在培养7 d后进行各项指标的检测,结果显示,与高糖组比较,人参皂苷高剂量给药组果蝇体内的海藻糖和甘油三酯含量均有所下降($P<0.05$),除此之外,因高糖作用导致的身體发育受到的限制也得到了显著缓解.因此,我们认为人参皂苷对处在高糖环境中的果蝇起到了一定的保护作用,对因高糖饮食导致的糖脂代谢紊乱性疾病的治疗提供了理论依据,同时为人参资源价值的发现和资源化利用提供参考.

5 结 论

正常果蝇在高糖环境下使果蝇体内海藻糖、甘油三酯含量显著上升,并且一定程度上阻碍了果蝇的生长发育.在人参皂苷的作用下,处于高糖环境中的果蝇体内的海藻糖和甘油三酯含量均有所下降,除此之外,身体发育所受到的限制得到一定程度的缓解.由此可见,人参皂苷对处在高糖环境中的果蝇具有一定的保护作用.

参考文献:

- [1] 崔玉娜,张怡轩,赵余庆.利用生物转化法制备稀有人参皂苷的研究进展[J].中草药,2009,40(5):676-680.
- [2] ZHAO Li,GAO Yugang,JI Qing,et al. Immune effects and mechanism of ginseng[J]. Cent South Pharm,2015,13(7):741.
- [3] 孟凡丽,苏晓田,郑毅男.人参皂苷 Rb-3 对糖尿病模型小鼠的降血糖和抗氧化作用[J].华南农业大学学报,2013,34(4):553-557.
- [4] MUSSELMAN L P,FINK J L,NARZINSKI K,et al. A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type drosophila[J]. Dis Mod Mech,2011,4(6):842.
- [5] MUSSELMAN L P,RONALD P K. Drosophila as a model to study obesity and metabolic disease[J]. J Exp Biol,2018,221(Pt Suppl 1):163881.
- [6] 欧曦阳.三种亲水性多糖对果蝇肠道免疫和肠道菌群影响的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2019.
- [7] 白野.中药提取物对高糖饮食诱导的果蝇代谢异常的缓解作用[D].哈尔滨:东北林业大学,2018.
- [8] 吴棋芳,何丹,吴明江,等.模式生物黑腹果蝇在高糖诱导代谢综合征研究中的应用进展[J].中国医药科学,2020,10(18):26-31.
- [9] MURILLO-MALDONADO J M,SFINCHEZ-CHAVEZ G,SALGADO L M,et al. Drosophila insulin pathway mutants affect visual physiology and brain function besides growth, lipid, and carbohydrate metabolism[J]. Diabetes,2011,60(5):1632-1636.
- [10] BUESCHER J L,MUSSELMAN L P,WILSON C A,et al. Evidence for transgenerational metabolic programming in Drosophila[J]. Dis Model Mech,2013,6(5):1123-1132.
- [11] YU H,ZHEN J,YANG Y,et al. Ginsenoside Rgl ameliorates diabetic cardiomyopathy by inhibiting endoplasmic re-ticulum stress-induced apoptosis in a-streptozotocin induced diabetes rat model[J]. J Journal of Cellular Molecular Medicine,2016,20(4):623-631.

【责任编辑:陈丽华】