DOI:10.16016/j.2097-0927.202110157

6-姜辣素改善果糖所致中年大鼠骨骼肌异位脂质沉积的研究

刘宇哲[1,2],詹权操[2,3],曾 颜[1,2],席雨蒙[2,3],李 冬[2,3],王建伟[2,3] 400016 重庆,重庆医科大学:基础医学院组织学与胚胎学教研室[1],中医药学院[3];400016 重庆,中医药防治代谢性疾病重庆市重点实验室[2]

[摘要] **目的** 探究 6-姜辣素改善果糖所致中年大鼠骨骼肌异位脂质沉积的作用及机制。**方法** 动物实验:将 24 只 15 月龄雄性 SD 大鼠采用随机数字表法分为 3 组:对照组(CON,正常饮水),模型组(FRU,10%果糖水),6-姜辣素组(GIN,10%果糖水,0.2 mg/kg 6-姜辣素),每组 8 只,6-姜辣素通过灌胃给药,每日 1 次,持续 49 d。采用酶法检测血浆葡萄糖(GLU)、甘油三酯(TG)及骨骼肌组织 TG 水平;油红 O 染色(ORO)检测骨骼肌组织脂质沉积;ELISA 检测血浆胰岛素(Insulin);Western blot 检测骨骼肌 AMPK、p-AMPK、ACC、p-ACC、CPT1A、PPARα 及 PGC1α 蛋白表达。细胞实验:将分化成熟的大鼠骨骼肌细胞分为 3 组:对照组(CON),模型组(FRU,25 mmol/L 果糖),6-姜辣素组(GIN,25 mmol/L 果糖,10 μmol/L 6-姜辣素),作用 24 h。酶法检测细胞内 TG 水平;ORO 检测骨骼肌细胞脂质沉积;Western blot 检测骨骼肌细胞 AMPK、p-AMPK、ACC、p-ACC 及 CPT1A 蛋白表达。**结果** 与对照组比较,模型组血浆 GLU、TG 及 Insulin 水平明显升高($P<0.05$),大鼠骨骼肌组织及骨骼肌细胞内 TG 含量明显升高($P<0.05$),ORO 示大鼠骨骼肌组织及骨骼肌细胞内脂质沉积明显,Western blot 示 p-AMPK/AMPK 及 p-ACC/ACC 降低,CPT1A、PPARα 及 PGC1α 蛋白表达明显降低($P<0.05$);与模型组比较,姜辣素组血浆 GLU、TG 及 Insulin 水平明显降低($P<0.05$),大鼠骨骼肌组织及骨骼肌细胞内 TG 含量显著降低($P<0.05$),ORO 示大鼠骨骼肌及骨骼肌细胞内脂质沉积减轻,Western blot 示 p-AMPK/AMPK 及 p-ACC/ACC 明显升高,CPT1A、PPARα 及 PGC1α 蛋白表达明显升高($P<0.05$)。**结论** 6-姜辣素可改善果糖所致中年大鼠骨骼肌异位脂质沉积,可能与骨骼肌 AMPK/ACC/CPT1A 通路的激活有关。

[关键词] 6-姜辣素;果糖;中年大鼠;骨骼肌;异位脂质沉积

[中图法分类号] R285.5; R322.74; R589.2 [文献标志码] A

6-gingerol ameliorates ectopic lipid accumulation in skeletal muscle of middle-aged rats induced by fructose

LIU Yuzhe[1,2], ZHAN Quancao[2,3], ZENG Yan[1,2], XI Yumeng[2,3], LI Dong[2,3], WANG Jianwei[2,3] [1]Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences; [2]Chongqing Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for Prevention and Cure of Metabolic Diseases; [3]College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect and mechanism of 6-gingerol on improving ectopic lipid accumulation in skeletal muscle of middle-aged rats induced by fructose. **Methods** A total of 24 male SD rats (15 months old) were randomly and equally divided into 3 groups: control group (CON, with normal drinking water), model group (FRU, with 10% fructose water) and 6-gingerol group (GIN, with 10% fructose water+0.2 mg/kg 6-gingerol by gavage). Gavage was performed once a day for consecutive 49 days. Levels of plasma glucose (GLU), triglyceride (TG) and skeletal muscle TG were measured by GOD-PAP method; lipid accumulation in skeletal muscle was detected by oil red O staining (ORO); content of plasma

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81973653)

[通信作者] 王建伟,E-mail: wjwcq68@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议( )

insulin was determined by ELISA; protein levels of AMP-activated protein kinase (AMPK), p-AMPK, acetyl-coa carboxylase (ACC), p-ACC, carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A), peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPARα) and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC1α) in skeletal muscle were examined with Western blotting. L6 rat skeletal muscle cells were divided into 3 groups: control group (Con), model group (FRU, treated with 25 mmol/L fructose for 24 h) and 6-gingerol group (GIN, treated with 25 mmol/L fructose+10 μmol/L 6-gingerol for 24 h). TG level and lipid accumulation in L6 cells were determined by GOD-PAP and ORO staining, respectively. The expression of AMPK, p-AMPK, ACC, p-ACC and CPT1A was examined by Western blotting. **Results** As compared with control group, the rat model group had higher levels of plasma GLU, TG and insulin ($P<0.05$), elevated TG content in both skeletal muscle tissues and cells ($P<0.05$), as well as notable lipid accumulation in skeletal muscle tissues and cells ($P<0.05$). Western blotting showed that the p-AMPK/AMPK ratio, p-ACC/ACC ratio, and the protein levels of CPT1A, PPARα and PGC1α were all decreased in the model group ($P<0.05$). However, 6-gingerol significantly reduced the levels of plasma GLU, TG and insulin ($P<0.05$), alleviated the TG contents and lipid accumulation in skeletal muscles and cells ($P<0.05$), and greatly increased the p-AMPK/AMPK ratio, p-ACC/ACC ratio and the levels of CPT1A, PPARα and PGC1α in the GIN group ($P<0.05$). **Conclusion** 6-gingerol can improve the ectopic lipid accumulation in skeletal muscle of middle-aged rats induced by fructose, which may be related to the activation of AMPK/ACC/CPT1A pathway.

[**Key words**] 6-gingerol; fructose; middle-aged rats; skeletal muscle; ectopic lipid accumulation

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81973653). Corresponding author: WANG Jianwei, E-mail: wjwcq68@163.com

老龄化是全球人口发展的普遍趋势,也是当前我国面临的重大挑战[1]。与此同时,衰老相关的疾病受到越来越多关注,特别是代谢综合征[2](metabolic syndrome,MS),一种以肥胖、糖代谢异常、质代谢紊乱等为临床反应的症候群,会增加糖尿病、心血管疾病、中风和某些癌症的发病风险。随着近代工业化发展,以高果糖和高果糖玉米糖浆为主要成分的食品越来越多,可能是导致代谢综合征在人群中流行的原因之一[3]。胰岛素抵抗(insulin resistance,IR)被普遍认为是 MS 发生的主要机制[4]。骨骼肌是胰岛素作用的主要靶组织之一[5],有研究指出,骨骼肌异位脂质沉积在 IR 中起重要作用[6]。因此,研究改善骨骼肌异位脂质沉积对改善 IR 有重要意义。

6-姜辣素是传统中药材、经典药食同源植物生姜的主要活性成分之一。中医认为生姜性辛、微温,归肺、脾、胃经,具有调理肺胃功能、促进津液运行输布的作用。现代西医认为,其具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、改善 IR 等生物学活性的作用[7]。本课题组前期结果证实,姜提取物改善果糖所致大鼠脂肪肝[8],生姜提取物能够改善高果糖饮食大鼠骨骼肌胰岛素敏感性[9],6-姜辣素能够改善老年大鼠骨骼肌异位脂质沉积[10],但 6-姜辣素对果糖诱导的中年大鼠骨骼肌异位脂质沉积的作用及机制尚不明确。本研究将结合体内和体外实验,探究 6-姜辣素对果糖所致中年大鼠骨骼肌异位脂质沉积的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物和细胞

SPF 级 Sprague-Dawley 大鼠 24 只,雄性,15 月龄,购自重庆医科大学动物实验中心,动物生产许可证号 SCXK(渝)2018-0003。采用分笼饲养方式,置于温度(21±1)℃,相对湿度(55±5)%环境中,12 h 明暗交替,自由饮水。所有操作按照《医学实验动物管理实施细则》要求,符合动物福利与伦理原则,适应性饲养 1 周后开始实验。L6 大鼠成肌细胞购于上海吉凯基因。

1.2 主要试剂

6-姜辣素(用于动物实验,日本 Pharmafood 研究所馈赠);6-姜辣素(用于细胞实验,上海源叶生物);阿拉伯胶(上海生工);甘油三酯测定试剂盒(南京建成);葡萄糖测定试剂盒(上海荣盛生物);大鼠胰岛素 ELISA 检测试剂盒(泉州九邦生物);油红 O 粉末(美国 Sigma 公司);胎牛血清、DMEM 培养基(美国 Gibco 公司);磷酸盐缓冲液(武汉博士德生物);青霉素+链霉素双抗、0.25%胰酶消化液(上海碧云天生物);D-果糖(美国 Sigma 公司);BCA 蛋白浓度测定试剂

盒、5X 蛋白上样缓冲液、RIPA 细胞裂解液、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(上海碧云天生物);AMPK 抗体、p-AMPK 抗体、ACC 抗体、p-ACC 抗体(美国 CST 公司);CPT1A 抗体、PPARα 抗体、PGC1α 抗体(美国 Abcam 公司);α-Tubulin 抗体、HRP 标记羊抗兔二抗(武汉博士德生物)。

1.3 主要仪器设备

超净水系统(德国 Sartorius 公司);酶标仪(美国 BioTek 公司);-80 ℃ 冰箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);稳压稳流电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);Odyssey® Fc 双色红外激光成像系统(美国 LI-COR 公司);细胞培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);冰冻切片机(德国 Leica 公司);移液枪(德国 Eppendorf 公司);光学显微镜(日本 Olympus 公司);显微摄影装置(日本 Nikon 公司)。

1.4 动物分组及给药

将 24 只 15 月龄雄性 SD 大鼠适应性喂养 1 周后采用随机数字表法分为 3 组:对照组(CON,正常饮水),模型组(FRU,10%果糖水),6-姜辣素组(GIN,10%果糖水,0.2 mg/kg 姜辣素),每组 8 只,各组均给予大鼠普通维持饲料。6-姜辣素由 5%阿拉伯胶混悬液配制而成。本课题组前期研究表明,0.2 mg/kg 姜辣素浓度为最佳灌胃剂量[10-11],因此本实验中 6-姜辣素组使用 0.2 mg/kg 姜辣素灌胃,对照组和模型组给予相应体积的 5%阿拉伯胶混悬液灌胃,每日灌胃 1 次,持续 49 d。实验过程中记录大鼠摄食量、果糖摄入量及体质量变化,实验结束称定各组织质量并记录。

1.5 生化指标检测

实验第 7 周末禁食 12 h 后处死所有大鼠,收集血浆,按试剂盒说明检测血浆 GLU、TG 及 Insulin 水平。计算稳态模型胰岛素抵抗指数(HOMA-IR),公式:HOMA-IR= FBG(空腹血糖水平,mmol/L) × FINS(空腹胰岛素水平,mIU/L) /22.5。

1.6 骨骼肌 TG 测定及油红 O 染色

取骨骼肌组织 80 mg,剪碎,按比例(组织:异丙醇=50 mg:1 mL)加入异丙醇,匀浆,4 ℃振荡过夜,离心取上清,按试剂盒说明测定 TG 含量。4%多聚甲醛固定骨骼肌组织,蔗糖梯度脱水,OCT 包埋,冰切厚度约 8 μm,油红 O 染色,60%异丙醇分化,苏木精复染,封片,观察并拍照。用 Image J 统计分析染色阳性区域面积。

1.7 Western blot 检测骨骼肌相关蛋白表达

取骨骼肌组织约 50 mg,剪碎,加入 RIPA 裂解液,冰上匀浆、超声,离心取上清,BCA 法测蛋白浓度,8%或 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶进行垂直电泳,冰水浴湿转,5% 脱脂牛奶常温封闭 2 h,一抗(稀释比例 1∶1 000)4 ℃孵育过夜,TBST 洗涤 6 次,每次 5 min,二抗(稀释比例 1∶5 000)室温孵育 2 h,TBST 洗涤 6 次,每次 5 min,ECL 发光,Image J 分析条带灰度值。目的条带的灰度值与相应内参(α-Tubulin)条带的灰度值比值,即为相应目的蛋白的相对表达量。

1.8 细胞培养、诱导分化及分组

L6 大鼠成肌细胞培养于含 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素及 100 μg/mL 链霉素的 DMEM 完全培养基中。用含 2%马血清的完全培养基诱导 L6 成肌细胞分化 3~4 d 成为成熟的大鼠骨骼肌细胞。本课题组前期研究表明,10 μmol/L 6-姜辣素为最佳浓度[10]。将分化成熟的骨骼肌细胞用无血清培养基饥饿处理 12 h 后,分为对照组(CON),模型组(FRU,25 mmol/L 果糖),6-姜辣素组(GIN,25 mmol/L 果糖,10 μmol/L 6-姜辣素),处理 24 h。

1.9 细胞内 TG 测定及油红 O 染色

用预冷 PBS 漂洗并收集细胞,加入裂解液,辅以超声裂解,按试剂盒说明测定细胞内 TG,BCA 法测定蛋白浓度以标准化细胞内 TG。室温下 PBS 漂洗细胞,4%多聚甲醛固定,60%异丙醇预分化,油红 O 染色,苏木精复染,封片,观察并拍照。用 Image J 软件统计分析染色阳性区域面积。

1.10 Western blot 检测 L6 大鼠骨骼肌细胞相关蛋白表达

用预冷 PBS 漂洗细胞,加入 RIPA 裂解液,冰上裂解 20 min,吹打收集细胞,辅以超声裂解,离心取上清,后续步骤同 1.7 Western blot 检测骨骼肌蛋白表达。

1.11 统计学方法

用 GraphPad Prism 9 软件进行统计学分析,组间数据比较采用单因素方差分析,$P<0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 6-姜辣素对大鼠一般情况的影响

与 CON 组比较,FRU 组和 GIN 素组平均每日摄食量均减少;FRU 与 GIN 组平均每日摄食量和果糖摄入量无统计学差异。与 CON 组比较,FRU 组与 GIN 组大鼠平均体质量呈时间依赖性增加。与 CON 组比较,FRU 组大鼠第 7 周末平均体质量增加($P<0.05$);与 FRU 组比较,GIN 组大鼠第 7 周末平均体质量稍降低。与 CON 组比较,FRU 组大鼠肝指数升高($P<0.05$);与 FRU 组比较,GIN 组大鼠肝指数降低($P<0.05$)。3 组大鼠骨骼肌指数无明显差异。见图 1。

2.2 6-姜辣素对大鼠血浆生化指标的影响

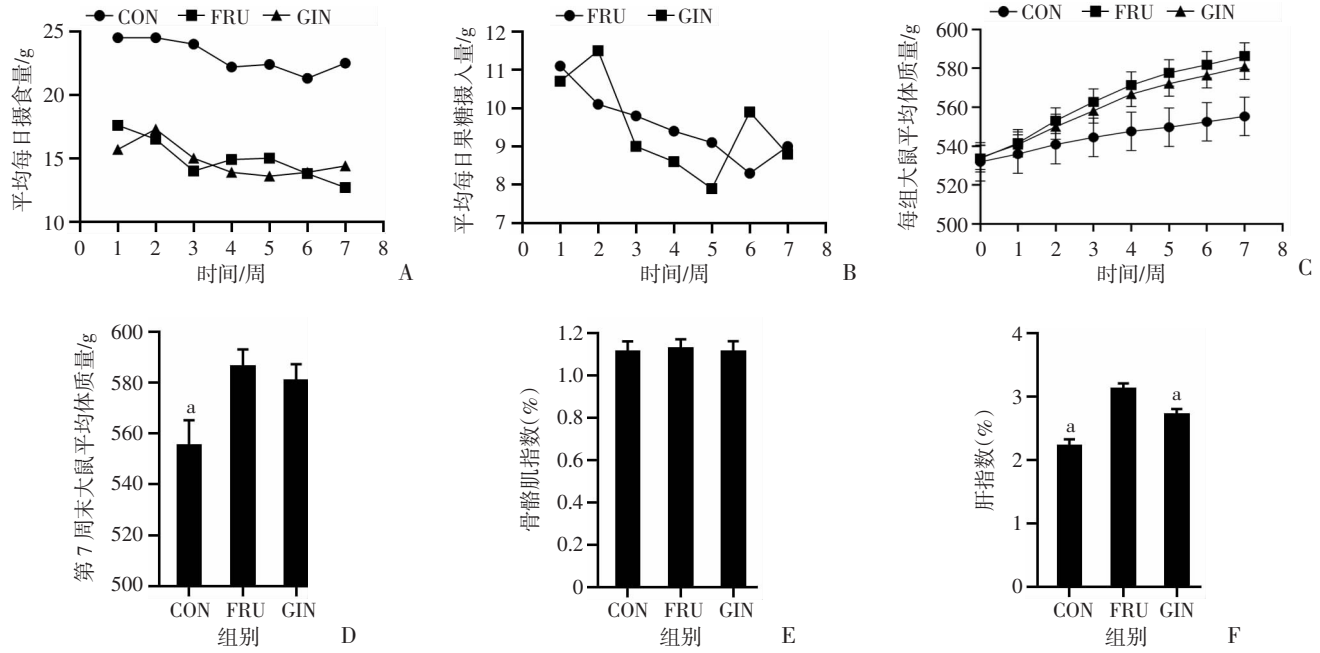
与CON组比较,FRU组大鼠血浆GLU、TG、Insulin水平及HOMA-IR升高($P<0.05$);与FRU组比较,GIN组大鼠血浆GLU、TG、Insulin水平及HOMA-IR降低($P<0.05$)。见图2。

2.3 6-姜辣素对大鼠骨骼肌异位脂质沉积的影响

与CON组比较,FRU组大鼠骨骼肌TG含量和油红O染色阳性面积增加($P<0.05$);与FRU组比较,GIN组大鼠骨骼肌TG含量和油红O染色阳性面积减少($P<0.05$)。见图3。

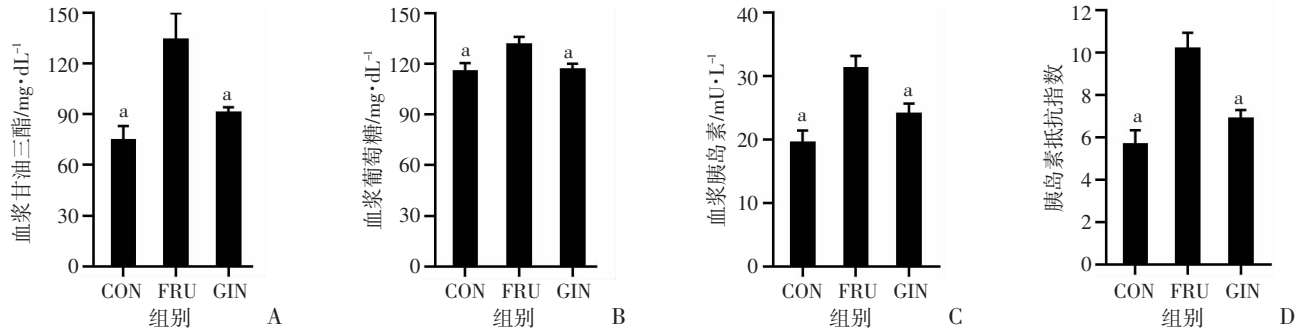
2.4 6-姜辣素对大鼠骨骼肌PPARα、PGC1α蛋白表达的影响

与CON组比较,FRU组PPARα、PGC1α蛋白表达降低($P<0.05$)。与FRU组比较,GIN组PPARα、PGC1α蛋白表达升高($P<0.05$)。见图4。



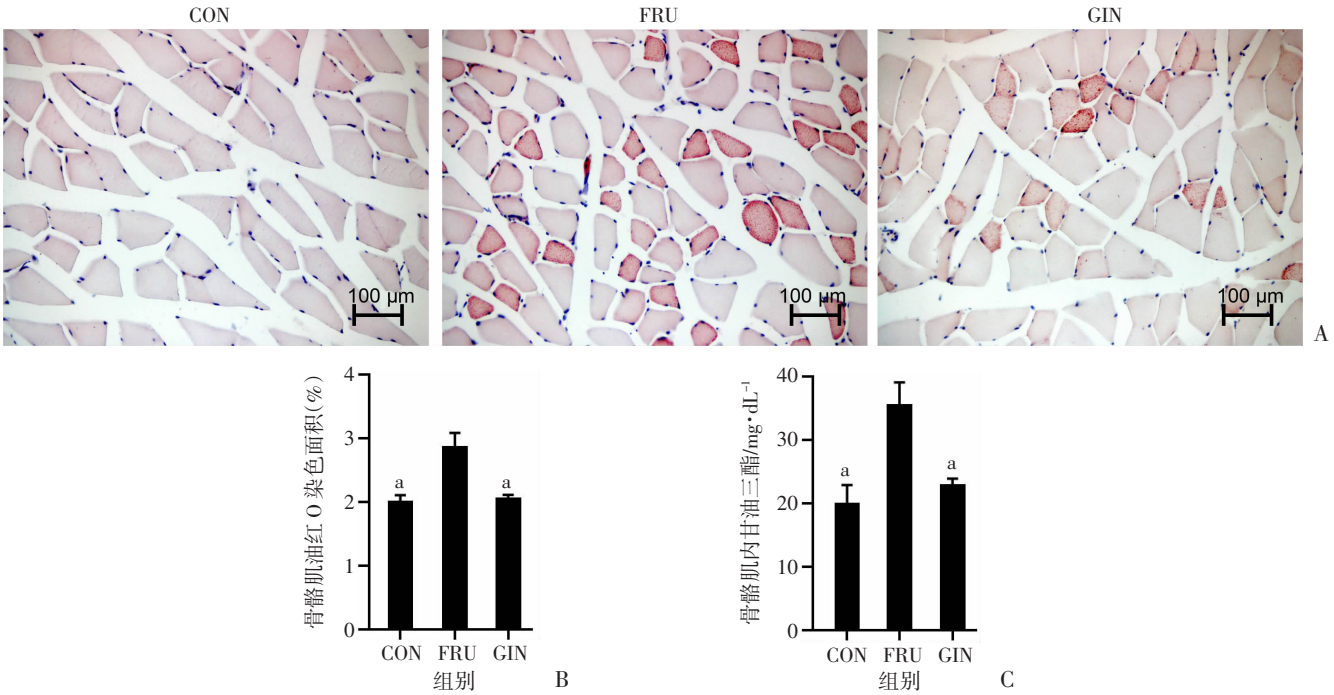
A:平均每日摄食量;B:平均每日果糖摄入量;C:平均体质量;D:第7周末大鼠的平均体质量;E:骨骼肌指数(大鼠骨骼肌与体质量之比);F:肝指数(大鼠肝脏与体质量之比);a:$P<0.05$,与FRU组比较

图1 6-姜辣素对大鼠一般情况的影响



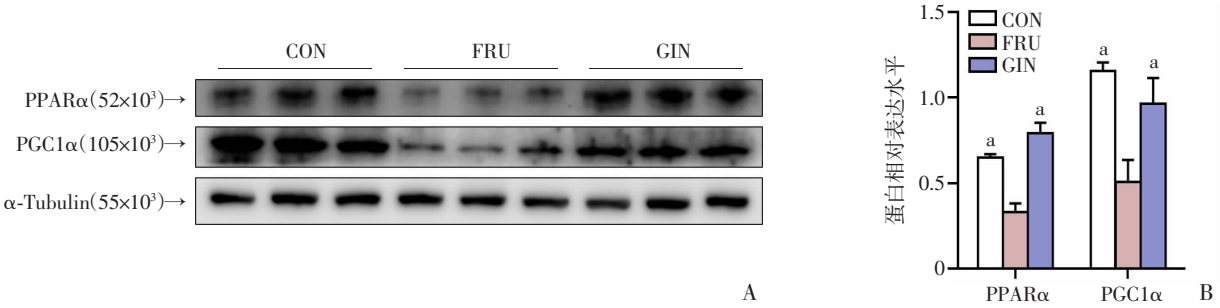
A:空腹血浆甘油三酯;B:空腹血浆葡萄糖;C:空腹血浆胰岛素水平;D:胰岛素抵抗指数(HOMA-IR);a:$P<0.05$,与FRU组比较

图2 6-姜辣素对大鼠血浆生化指标的影响



A:大鼠骨骼肌油红 O 染色;B:骨骼肌油红 O 染色阳性区域面积统计;C:骨骼肌内甘油三酯水平;a:$P<0.05$,与 FRU 组比较

图 3 6-姜辣素对大鼠骨骼肌异位脂质沉积的影响



A:骨骼肌 PPARα、PGC1α 蛋白表达水平;B:骨骼肌 PPARα、PGC1α 蛋白表达水平统计结果;a:$P<0.05$,与 FRU 组比较

图 4 6-姜辣素对大鼠骨骼肌 PPARα、PGC1α 蛋白表达的影响

2.5 6-姜辣素对大鼠骨骼肌 AMPK/ACC/CPT1A 通路蛋白表达的影响

与 CON 组比较,FRU 组 p-AMPK 蛋白表达降低($P<0.05$),AMPK 蛋白表达无统计学差异,p-AMPK/AMPK 降低,p-ACC 蛋白表达降低,ACC 蛋白表达升高,p-ACC/ACC 降低,CPT1A 蛋白表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 FRU 组比较,GIN 组 p-AMPK 蛋白表达升高($P<0.05$),AMPK 蛋白表达差异无统计学意义,p-AMPK/AMPK 升高,p-ACC 蛋白表达升高,ACC 蛋白表达降低,p-ACC/ACC 升高,CPT1A 蛋白表达升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 5。

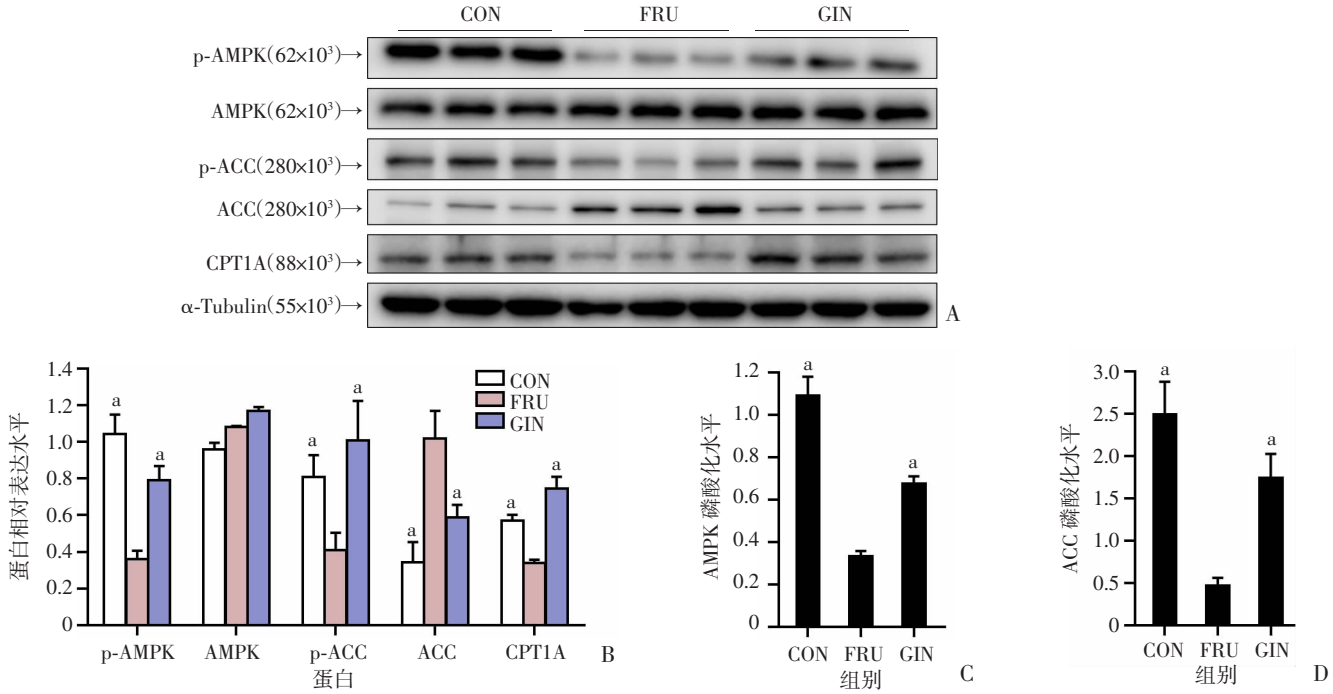
2.6 6-姜辣素对大鼠骨骼肌细胞脂质沉积的影响

与 CON 组比较,FRU 组大鼠骨骼肌细胞内 TG 含量和油红 O 染色阳性面积增加($P<0.05$),细胞核周围胞质内可见大量脂滴;与模型组比较,GIN 组大鼠骨骼肌细胞内 TG 含量和油红 O 染色阳性面积减少($P<0.05$),细胞核周围脂滴数量减少,体积缩小。见图 6。

2.7 6-姜辣素对大鼠骨骼肌细胞 AMPK/ACC/CPT1A 通路蛋白表达的影响

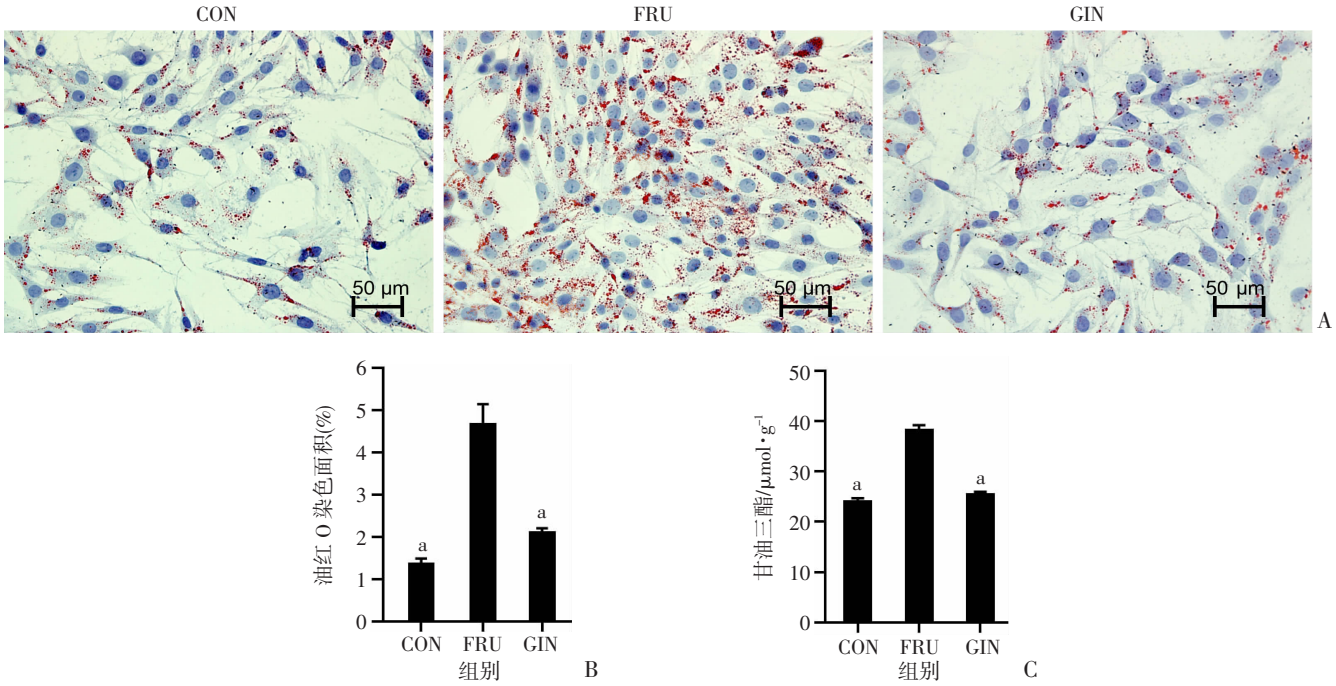
与 CON 组比较,FRU 组 p-AMPK 蛋白表达降低($P<0.05$),AMPK 蛋白表达差异无统计学意义,p-AMPK/AMPK降低,p-ACC蛋白表达降低,ACC蛋白

表达升高,p-ACC/ACC 降低,CPT1A 蛋白表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 FRU 组比较,GIN 组 p-AMPK 蛋白表达升高($P<0.05$),AMPK 蛋白表达差异无统计学意义,p-AMPK/AMPK 升高,p-ACC 蛋白表达升高,ACC 蛋白表达降低,p-ACC/ACC 升高,CPT1A 蛋白表达升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 7。



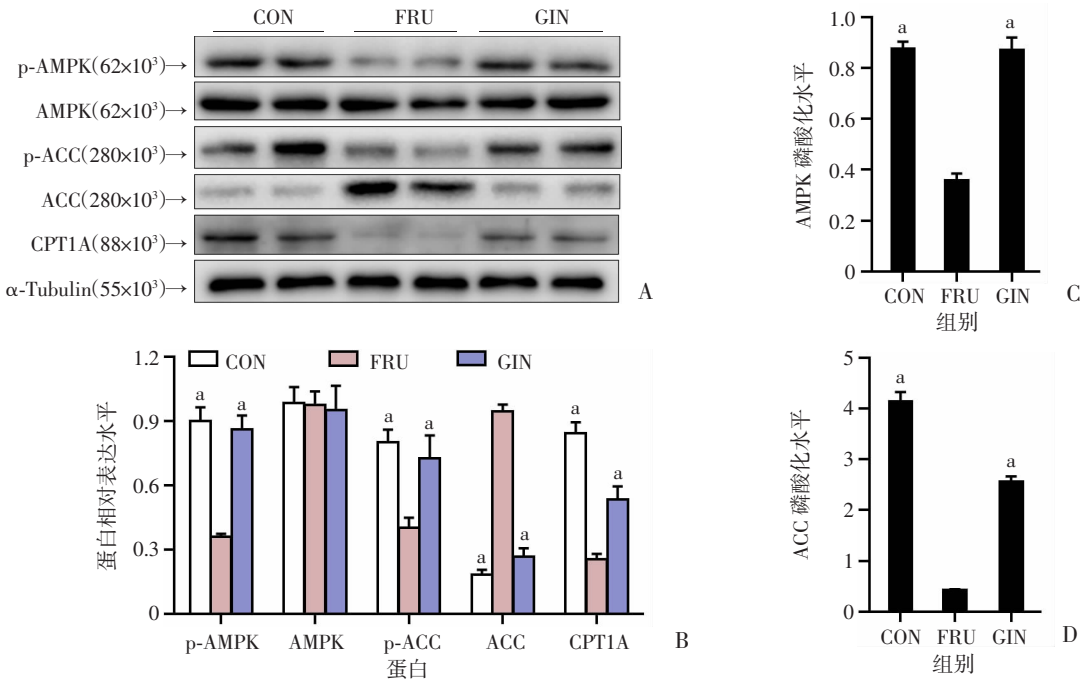
A:骨骼肌相关蛋白表达水平;B:骨骼肌相关蛋白表达水平统计结果;C:骨骼肌 AMPK 蛋白磷酸化水平;D:骨骼肌 ACC 蛋白磷酸化水平;a:$P<0.05$,与 FRU 组比较

图 5 6-姜辣素对大鼠骨骼肌 AMPK/ACC/CPT1A 通路蛋白表达的影响



A:大鼠骨骼肌细胞油红 O 染色;B:大鼠骨骼肌细胞油红 O 染色阳性区域面积统计;C:大鼠骨骼肌细胞甘油三酯水平;a:$P<0.05$,与 FRU 组比较

图 6 6-姜辣素对大鼠骨骼肌细胞脂质沉积的影响



A:大鼠骨骼肌细胞相关蛋白表达水平;B:骨骼肌细胞相关蛋白表达水平统计结果;C:骨骼肌细胞 AMPK 蛋白磷酸化水平;D:骨骼肌细胞 ACC 蛋白磷酸化水平;a:$P<0.05$,与 FRU 组比较

图 7 6-姜辣素对大鼠骨骼肌细胞 AMPK/ACC/CPT1A 通路蛋白表达的影响

3 讨论

有研究表明,IR 下的骨骼肌线粒体存在氧化磷酸化和脂质氧化功能障碍,导致骨骼肌异位脂质沉积,而异位脂质沉积反过来又加剧了 IR[12]。本研究采用果糖诱导建立 IR 动物模型研究 6-姜辣素对大鼠骨骼肌异位脂质沉积的改善作用。结果证实,6-姜辣素可显著降低果糖所诱导中年大鼠血浆 GLU、TG 及 Insulin 水平,降低 HOMA-IR,明显改善果糖所致中年大鼠骨骼肌异位脂质沉积。

过氧化物酶体增殖物激活受体 α(PPARα)属于核受体家族的转录因子,研究表明,PPARα 激活后,能够促进增强子中含有 PPARα 反应元件(PPRE)的基因的转录,其中最显著的是参与脂质代谢和能量稳态的基因[13-15]。许多脂肪酸是 PPARα 的天然配体,有研究表明,PPARα 的活化能够加强对脂肪酸的氧化作用[16]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子 1α(PGC1α)是一种转录共激活因子,主要参与线粒体合成功能和氧化磷酸化的调节[17]。同 PPARα 一样,PGC1α 也主要在富含线粒体的组织中表达,并可以被腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)直接激活[18]。在本研究中,与对照组比较,模型组大鼠骨骼肌 PPARα 和 PGC1α 蛋白表达降低,而 6-姜辣素干预后,其表达水平明显上升,提示 6-姜辣素可能通过增强骨骼肌线粒体对脂肪酸的氧化来改善骨骼肌异位脂质沉积。本课题组前期研究表明,6-姜辣素能够改善老年大鼠骨骼肌异位脂质沉积和线粒体功能[10]。

AMPK 是一种主能量传感器,它整合了营养物质、激素和压力信号,在维持细胞能量稳态中发挥重要作用[18]。多项研究表明,暴露于过量的营养物质会降低多种组织和细胞中 AMPK 的活性[19-21]。激活 AMPK 可抑制合成代谢途径和增强分解代谢途径来治疗肥胖和代谢紊乱[22]。骨骼肌 AMPK 的活化能够促进非人类灵长类动物和小鼠骨骼肌摄取及利用葡萄糖[23]。有研究表明,6-姜辣素可以促进小鼠脂肪细胞、骨骼肌细胞中 AMPK 的活化[24-25]。AMPK 可通过调节下游乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)和肉碱棕榈酰转移酶 1A(CPT1A)在调控脂质代谢中发挥作用。

ACC 是脂肪酸从头合成和氧化过程中的一种关键酶,可催化乙酰辅酶 A(Acetyl-CoA)羧化形成丙二酰辅酶 A(Malonyl-CoA),后者是脂肪酸从头合成的重要原料,也能直接抑制 CPT1A 的活性[26]。哺乳动物中,ACC 有 ACC1 和 ACC2 两种类型同工酶。啮齿动物中,ACC1 主要在脂质生成组织中表达,如脂肪组织等;ACC2 主要表达于以氧化功能为主的组织中,如骨骼肌和心肌等。虽然 ACC 两种同工酶的组织分布和

功能不尽相同,但在功能上一定程度可以相互代偿。激活的 AMPK 通过使 ACC 磷酸化而抑制其活性,同时降低 ACC 的表达[27],从而减少其催化产物 Malonyl-CoA 的产生,进而抑制脂肪酸的从头合成,并减轻对 CPT1A 的直接抑制作用。CPT1A 是线粒体脂肪酸 β-氧化过程的限速酶,它被 Malonyl-CoA 变构抑制,是维持脂肪酸代谢平衡的关键调节机制[28]。从药理学角度来讲,使用可以活化 CPT1A 酶的药物能够增加脂肪酸的氧化代谢,进而促进脂质的消耗。

综上,本研究通过果糖诱导中年大鼠 IR 模型,发现模型组大鼠骨骼肌 AMPK 和 ACC 蛋白磷酸化受抑制,CPT1A、PPARα 及 PGC1α 等蛋白表达水平降低,而 6-姜辣素能够激活 AMPK 促使其磷酸化,促进下游 ACC 磷酸化而抑制其活性,促进 CPT1A、PPARα 及 PGC1α 等蛋白的表达,改善骨骼肌异位脂质沉积。体外实验亦证明,6-姜辣素能激活 AMPK/ACC/CPT1 信号通路,改善果糖诱导的 L6 大鼠骨骼肌细胞脂质沉积。结合体内和体外实验,发现 6-姜辣素可能是通过激活骨骼肌 AMPK 促使其磷酸化,促进下游 ACC 的磷酸化而抑制其活性,增加 CPT1A 活性,同时从抑制脂肪酸合成和促进脂肪酸氧化两方面改善骨骼肌脂质沉积。本研究结果表明,6-姜辣素可改善果糖所致中年大鼠骨骼肌异位脂质沉积,这可能与骨骼肌 AMPK/ACC/CPT1A 通路的激活有关。

参考文献:

[1] 贺丹, 刘厚莲. 中国人口老龄化发展态势、影响及应对策略[J]. 中共中央党校(国家行政学院)学报, 2019, 23(4): 84-90. DOI: 10.14119/j.cnki.zgxb.2019.04.011.
HE D, LIU H L. Population aging trend, impact and coping strategies in China[J]. J Party School Central Comm C. P. C. (Chin Acad Govern), 2019, 23(4): 84-90. DOI: 10.14119/j.cnki.zgxb.2019.04.011.

[2] DOMINGUEZ L J, BARBAGALLO M. The biology of the metabolic syndrome and aging[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2016, 19(1): 5-11. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000243.

[3] TAPPY L, LE K A. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity[J]. Physiol Rev, 2010, 90(1): 23-46. DOI: 10.1152/physrev.00019.2009.

[4] ROBERTS C K, HEVENER A L, BARNARD R J. Metabolic syndrome and insulin resistance: underlying causes and modification by exercise training[J]. Compr Physiol, 2013, 3(1): 1-58. DOI: 10.1002/cphy.c110062.

[5] PETERSEN M C, SHULMAN G I. Mechanisms of insulin action and insulin resistance[J]. Physiol Rev, 2018, 98(4): 2133-2223. DOI: 10.1152/physrev.00063.2017.

[6] 李婷, 阮定国, 高晋晋, 等. 骨骼肌脂肪异位沉积在高脂膳食诱导胰岛素抵抗中的作用[J]. 生理学报, 2018, 70(4): 433-444. DOI: 10.13294/j.aps.2018.0050.
LI T, RUAN D G, GAO J J, *et al*. Role of skeletal muscle fat ectopic deposition in insulin resistance induced by high-fat diet[J]. Acta physiologica Sinica, 2018, 70(4): 433-444. DOI: 10.13294/j.aps.2018.0050.

[7] RAHIMLOU M, YARI Z, RAYYANI E, *et al*. Effects of ginger supplementation on anthropometric, glycemic and metabolic parameters in subjects with metabolic syndrome: A randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. J Diabetes Metab Disord, 2019, 18(1): 119-125. DOI: 10.1007/s40200-019-00397-z.

[8] 陈婷, 姚玲, 柯大智, 等. 生姜乙醇提取物改善果糖所致大鼠脂肪肝的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27: 28-33. DOI: 10.3969/j.issn.1003-9783.2016.01.007.
CHEN T, YAO L, KE D Z, *et al*. Mechanism of ginger ethanol extract in improving fructose-induced rat fatty liver[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2016, 27: 28-33. DOI: 10.3969/j.issn.1003-9783.2016.01.007.

[9] 张军, 曾颜, 靳雅倩, 等. 生姜提取物调节骨骼肌 CD36 和 PPARα 改善高果糖饮食大鼠胰岛素敏感性[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31: 621-626. DOI: 10.19378/j.issn.1003-9783.2020.06.001.
ZHANG J, ZENG Y, JIN Y Q, *et al*. Improvement of liquid fructose-induced skeletal muscle insulin sensitivity in rats by ginger treatment is associated with CD36 and PPARα[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2020, 31: 621-626. DOI: 10.19378/j.issn.1003-9783.2020.06.001.

[10] LIU L, YAO L, WANG S, *et al*. 6-gingerol improves ectopic lipid accumulation, mitochondrial dysfunction, and insulin resistance in skeletal muscle of ageing rats: dual stimulation of the AMPK/PGC-1alpha signaling pathway *via* plasma adiponectin and muscular AdipoR1[J]. Mol Nutr Food Res, 2019, 63(6): e1800649. DOI: 10.1002/mnfr.201800649.

[11] LI J, WANG S, YAO L, *et al*. 6-gingerol ameliorates age-related hepatic steatosis: Association with regulating lipogenesis, fatty acid oxidation, oxidative stress and mitochondrial dysfunction[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 362: 125-135. DOI: 10.1016/j.taap.2018.11.001.

[12] RODEN M. Muscle triglycerides and mitochondrial function: possible mechanisms for the development of type 2 diabetes[J]. Int J Obes (Lond), 2005, 29(Suppl 2): S111-S115. DOI: 10.1038/sj.ijo.0803102.

[13] SCHOONJANS K, STAELS B, AUWERX J. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression

[J]. J Lipid Res, 1996, 37(5): 907-925.

[14] FERRÉ P. The biology of peroxisome proliferator-activated receptors: relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity[J]. Diabetes, 2004, 53(Suppl 1): S43-S50. DOI: 10.2337/diabetes.53.2007.s43.

[15] DE SOUZA A T, DAI X, SPENCER A G, *et al*. Transcriptional and phenotypic comparisons of Ppara knockout and siRNA knockdown mice [J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34(16): 4486-4494. DOI: 10.1093/nar/gkl609.

[16] KERSTEN S. Integrated physiology and systems biology of PPARalpha [J]. Mol Metab, 2014, 3(4): 354-371. DOI: 10.1016/j.molmet.2014.02.002.

[17] HANDSCHIN C, SPIEGELMAN B M. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism [J]. Endocr Rev, 2006, 27(7): 728-735. DOI: 10.1210/er.2006-0037.

[18] HARDIE D G, ROSS F A, HAWLEY S A. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(4): 251-262. DOI: 10.1038/nrm3311.

[19] KRAEGEN E W, SAHA A K, PRESTON E, *et al*. Increased malonyl-CoA and diacylglycerol content and reduced AMPK activity accompany insulin resistance induced by glucose infusion in muscle and liver of rats [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006, 290(3): E471-E479. DOI: 10.1152/ajpendo.00316.2005.

[20] WU Y, SONG P, XU J, *et al*. Activation of protein phosphatase 2A by palmitate inhibits AMP-activated protein kinase [J]. J Biol Chem, 2007, 282(13): 9777-9788. DOI: 10.1074/jbc.M608310200.

[21] SAHA A K, XU X J, LAWSON E, *et al*. Downregulation of AMPK accompanies leucine- and glucose-induced increases in protein synthesis and insulin resistance in rat skeletal muscle [J]. Diabetes, 2010, 59(10): 2426-2434. DOI: 10.2337/db09-1870.

[22] HERZIG S, SHAW R J. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(2): 121-135. DOI: 10.1038/nrm.2017.95.

[23] COKORINOS E C, DELMORE J, REYES A R, *et al*. Activation of skeletal muscle AMPK promotes glucose disposal and glucose lowering in non-human primates and mice [J]. Cell Metab, 2017, 25(5): 1147-1159 e10. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.04.010.

[24] LEE J O, KIM N, LEE H J, *et al*. [6]-Gingerol affects glucose metabolism by dual regulation *via* the AMPKalpha2-mediated AS160-Rab5 pathway and AMPK-mediated insulin sensitizing effects [J]. J Cell Biochem, 2015, 116(7): 1401-1410. DOI: 10.1002/jcb.25100.

[25] WANG J, ZHANG L, DONG L, *et al*. 6-Gingerol, a functional polyphenol of ginger, promotes browning through an AMPK-dependent pathway in 3T3-L1 adipocytes [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(51): 14056-14065. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b05072.

[26] BROWNSEY R W, BOONE A N, ELLIOTT J E, *et al*. Regulation of acetyl-CoA carboxylase [J]. Biochem Soc Trans, 2006, 34(2): 223-227. DOI: 10.1042/bst0340223.

[27] 田硕, 吴丽丽, 张卫华, 等. 基于 AMPK/ACC 信号通路探讨夏枯草提取物调节 ZDF 大鼠脂代谢的机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25: 82-88. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20190806.

TIAN S, WU L L, ZHANG W H, *et al*. Mechanism of prunellae spica extracts on lipid metabolism in ZDF rats based on AMPK/ACC signalling pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2019, 25: 82-88. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20190806.

[28] SCHREURS M, KUIPERS F, VAN DER LEIJ F R. Regulatory enzymes of mitochondrial beta-oxidation as targets for treatment of the metabolic syndrome [J]. Obes Rev, 2010, 11(5): 380-388. DOI: 10.1111/j.1467-789X.2009.00642.x.

(**收稿**:2021-10-26;**修回**:2022-01-05)

(编辑 刘秋池)