

人参皂苷 Rb1 对肥胖小鼠骨骼肌胰岛素抵抗及 AMPK 信号通路的影响

赵丹丹¹ 白颖¹ 吴瑞² 莫芳芳¹ 方心³ 田甜² 马如风¹ 柳辰玥¹ 朱如愿¹ 高思华¹

(1 北京中医药大学中医学院,北京,100029; 2 中国中医科学院广安门医院南区内分泌科,北京,102618;

3 北京中医药大学第三附属医院内分泌科,北京,100029)

摘要 目的:观察人参皂苷 Rb1 对肥胖模型小鼠体质量、体成分、血脂、骨骼肌耐力及胰岛素敏感性等指标的影响,研究其药理作用;并进一步探讨其对骨骼肌 AMPK 信号通路的影响。方法:选取 8 周龄 C57BL/6J 小鼠高脂喂养 12 周诱导肥胖模型,将成模小鼠随机分为模型对照组,二甲双胍组,人参皂苷 Rb1 组,以正常饲料喂养的小鼠作为正常对照,给药干预 8 周。每周定期检测小鼠体质量、摄食量;第 3 和 7 周行小鼠跑台实验;第 4 和 8 周行口服葡萄糖耐量实验;第 8 周用磁共振成像清醒动物体成分分析仪检测小鼠体成分;实验结束后取材,检测血脂 4 项及游离脂肪酸水平,实时荧光定量 PCR 检测骨骼肌组织单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK) α 及过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1(PGC-1) α 的 mRNA 水平,免疫印迹法检测脂肪组织 AMPK α 、p-AMPK α 、PGC-1 α 蛋白的表达。结果:人参皂苷 Rb1 组小鼠体质量(自给药第 5 周起)、摄食量均明显低于模型对照组小鼠($P < 0.05$),有一定的时效关系。人参皂苷 Rb1 可显著降低三酰甘油、低密度脂蛋白胆固醇,提高高密度脂蛋白胆固醇的水平,并降低血清游离脂肪酸水平($P < 0.05$)。人参皂苷给药 8 周可降低肥胖小鼠体脂肪含量,并增加肌肉含量($P < 0.05$),增加小鼠骨骼肌运动耐力($P < 0.05$),改善其口服糖耐量。人参皂苷 Rb1 能上调肥胖小鼠骨骼肌组织 AMPK α mRNA 及蛋白表达,且 p-AMPK α 蛋白表达亦明显增加($P < 0.05$),同时提高肥胖小鼠骨骼肌组织 PGC-1 α 的 mRNA 及蛋白表达($P < 0.05$)。结论:人参皂苷 Rb1 能通过激活骨骼肌 AMPK 信号通路相关蛋白,达到减轻肥胖小鼠体质量,降低血脂水平,提高骨骼肌耐力,并增加其胰岛素敏感性的作用。

关键词 人参皂苷 Rb1;肥胖;骨骼肌;胰岛素抵抗;AMPK 信号通路

Effects of Ginsenoside Rb1 on Insulin Resistance and AMPK Signal Pathway of Muscular Tissues of Obese Mice

Zhao Dandan¹, Bai Ying¹, Wu Rui², Mo Fangfang¹, Fang Xin³, Tian Tian¹, Ma Rufeng¹, Liu Chenyue¹, Zhu Ruyuan¹, Gao Sihua¹

(1 Traditional Chinese Medicine School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2 Department of Endocrinology, South Area of Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 102618, China;

3 Department of Endocrinology, Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To observe the effects of ginsenoside Rb1 on body weight, body composition, blood lipid, skeletal muscle endurance and insulin sensitivity in obese mice, and further explore its effects on AMPK signaling pathway in skeletal muscle. **Methods:** 8-week-old C57BL/6J mice were fed with high fat diet for 12 weeks to induce obese mice model. The obese mice were randomly divided into three groups (the model control group, the metformin group and the ginsenoside Rb1 group). The peer mice fed with normal diet was set as the normal control. The mice were administrated with corresponding drugs for 8 weeks. Body weight and food intake of the mice were measured regularly every week. Treadmill test was performed on the 3rd and 7th week, and the oral glucose tolerance test was conducted on the 4th and 8th week. Body composition of the mice was detected by NMR Animal Body Composition Analyzer on the 8th week. Four indexes of plasma lipids and free fatty acid levels were detected at the end of the study. The mRNA expressions of AMPK α and PGC-1 α in skeletal muscle were examined by real-time fluorescence quantitative PCR (FQ-PCR), and the protein expression of AMPK α , p-AMPK α and PGC-1 α were detected by Western blot. **Results:** The body weight (since the 5th week) and food intake of the mice in the ginsenoside Rb1 group were significantly lower than those in the model control group ($P < 0.05$) in a relatively time-dependent manner. Ginsenoside Rb1 could significantly reduce the levels of triglyceride and low density lipoprotein cholesterol, while increase that of high density lipoprotein cholesterol ($P < 0.05$). In addition, ginsenoside Rb1 reduced serum free fatty acid levels ($P < 0.05$). After the administration of ginsenoside Rb1 for 8 weeks, the body fat

基金项目:国家自然科学基金项目(NSFC81503540&NSFC81274041);朝阳区科委协同创新项目(CYXC1513);重大新药创制子课题(2012ZX09103201-005);北京市共建项目(0101216-14&0101216-2013)

作者简介:赵丹丹(1985.07—),女,博士,助理研究员,研究方向:中医药防治糖尿病的基础与临床,E-mail:bucmzhaoandan@163.com

通信作者:高思华(1957.07—),男,博士,二级教授,博士研究生导师,研究方向:脏腑相关理论与中医药防治糖尿病的基础与临床,E-mail:gaosihua1216@163.com

mass of obese mice was decreased and the lean mass was increased, oppositely ($P < 0.05$). The skeletal muscle endurance ($P < 0.05$) and the oral glucose tolerance of the obese mice were improved by ginsenoside Rb1. At the molecular level, ginsenoside Rb1 could up-regulate the mRNA and protein expression of AMPK α in skeletal muscles, and the content of p-AMPK protein was also increased significantly ($P < 0.05$). At the same time, the mRNA and protein expression level of PGC-1 α were also up-regulated, correspondingly ($P < 0.01$). **Conclusion:** Ginsenoside Rb1 exerts effects on reducing body weight, decreasing blood lipid levels, improving skeletal muscle endurance and insulin sensitivity in obese mice by activating AMPK signaling pathway in skeletal muscles.

Key Words Ginsenoside Rb1; Obesity; Muscle tissues; Insulin resistance; AMPK signal pathway

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.04.013

胰岛素抵抗 (Insulin Resistance, IR) 是指胰岛素维持正常血糖的作用下降, 其产生的生物学效应低于正常水平, 或肝脏、肌肉和脂肪组织等周围靶组织细胞对胰岛素的反应性下降而导致葡萄糖摄取和利用效率下降而产生的一系列临床表现, 是 2 型糖尿病 (T2DM) 的重要发病机制之一。研究表明 T2DM 患者中 80% 伴有肥胖, 病理改变以肥胖引起脂代谢紊乱, 诱发 IR 为特点^[1]。其中骨骼肌作为胰岛素作用的主要靶位, 负责餐后状态 80% 以上的葡萄糖代谢^[2], 而单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 是骨骼肌细胞代谢调控的主要激酶, 参与调节葡萄糖摄取等代谢相关的多种代谢通路^[3]。

人参皂苷 Rb1 是人参二醇系皂苷的代表成分之一, 主要分布于人参、三七、西洋参等传统中药中, 临床应用较为广泛, 用于糖尿病、冠心病、肿瘤等多种疾病的治疗。药理研究显示人参皂苷 Rb1 具有中枢神经系统、心血管系统、免疫系统和抗肿瘤等多种药理作用^[4], 但对人参皂苷 Rb1 在降低血糖及调节 IR 方面, 尤其是骨骼肌能量调节方面的报道较少。因此, 本研究拟观察人参皂苷 Rb1 对肥胖小鼠体成分、血脂、糖耐量及 AMPK 信号通路等的影响, 为进一步阐明人参用于糖尿病及其并发症的治疗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选取 8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠, 购自北京斯贝福生物科技股份有限公司 (许可证号 SCXK (京) 2014-0004), 饲养于北京中医药大学屏障环境动物实验室。小鼠均单笼饲养, 饲养处于 12 h/12 h 光暗周期, 控制 23 ℃ 恒温, 45% 相对湿度, 饲养期间小鼠自由进食水。普通饲料采用 AIN-96G 全价营养饲料, 高脂纯化饲料均由江苏美迪森生物医药有限公司提供。

1.1.2 药物 人参皂苷 Rb1 购自于成都普瑞法科技开发有限公司; 盐酸二甲双胍片 (中美上海施贵宝制药有限公司), 均 4 ℃ 条件保存。灌胃前用超纯水

配制所需浓度混悬液。

1.1.3 试剂与仪器 血脂试剂盒均为南京建成生物工程研究所产品; FFA 试剂盒由北京百诺威有限责任公司提供。全自动生化分析仪为日立 7080 型。磁共振成像 (NMR) 小动物体成分分析仪为上海纽迈电子科技有限公司生产。单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) α 、磷酸化单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (p-AMPK α)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 (PGC-1) α /GAPDH 一抗 (均购自于 CST 公司, 美国); 辣根过氧化物酶标记二抗 (美国 GBI 公司)。

2 方法

选取 8 周龄雄性 C57/6J 小鼠 50 只, 适应性喂养 1 周后, 随机抽出 10 只为正常对照组, 余下 40 只予以高脂饲料喂饲 12 周后, 以体质量大于正常对照组平均体质量的 20% 作为肥胖小鼠成模标准。将模型制备成功的肥胖小鼠随机分成模型对照组、二甲双胍组、人参皂苷 Rb1 组, 每组 8 只。

1.2.2 给药方法 连续灌胃给药 8 周, 人参皂苷 Rb1 组: 20 mg/(kg · d), 二甲双胍组: 75 mg/(kg · d), 体积为 0.1 mL/10 g 体质量, 正常对照组和模型对照组灌胃等体积灭菌水。

1.2.3 检测指标与方法 体成分检测: 药物干预 8 周时, 分别对应用 NMR 清醒动物体成分分析仪对各组小鼠进行体成分检测, 记录体脂含量及体肌含量。

口服糖耐量实验: 药物干预第 4 周、8 周行口服糖耐量实验。实验前小鼠禁食过夜, 50% 葡萄糖按 2 g/kg 体质量腹腔注射, 测定注射前 (0 min) 及注射后 30 min、60 min 和 120 min 小鼠血糖, 绘制 OGTT 时间曲线图, 并采用近似梯形方法计算曲线下面积 (AUC), 计算公式如下: $AUC = 0.5 \times (BG_0 \text{ min} + BG_{30} \text{ min})/2 + 0.5 \times (BG_{30} \text{ min} + BG_{60} \text{ min})/2 + 1 \times (BG_{60} \text{ min} + BG_{120} \text{ min})/2$ 。

小鼠跑台实验力竭时间测定: 在灌胃第 3 周和第 7 周, 各组小鼠进行为期 6 d 的跑台适应训练, 然

后进行正式测试,记录每只动物每天的力竭时间。力竭速度为 20 m/min,跑台坡度为 5°,力竭标准为小鼠连续掉落电网被电击,始终处于跑道后 1/3 段,静息呈腹卧位,呼吸急促,无法完成跑台任务。记录力竭时间。

血脂水平及游离脂肪酸检测:给药 8 周后禁食过夜,次日早晨麻醉动物,腹主动脉取血,离心后分离血清,用生化仪进行三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的测定。并按照试剂盒说明书检测血清标本中游离脂肪酸(FFA)水平。

肌组织取材:动物麻醉后,暴露大鼠后肢骨骼肌,剪取两侧腓肠肌为骨骼肌材料,用生理盐水清洗骨骼肌,用于后续分子生物学指标检测(80℃冻存)。

时荧光定量 PCR 检测:应用 Trizol 法提取骨骼肌组织总 RNA,按反转录试剂盒操作将总 RNA 转录成单链 cDNA,进一步以 SYBR MIX(10 μL) + cDNA 模板(2 μL) + 上/下游引物(各 1 μL) + 无核酸酶超纯水(6 μL)的反应体系,上荧光定量 PCR 仪进行扩增反应,95℃预变性 2 min,继以 95℃变性 20 s,退火 15 s,72℃延伸 30 s,如此反复 40 个循环后,结束后 4℃保存。每个样品设立 3 个复孔重复。AMPK 上游引物 AAACCCACAGAAATCCAAACAC,下游引物 CCTTCCATTTCATAGTCCAACTG;PGC-1α 上游引物 CCCTGCCATTGTTAAGACC,下游引物 TGCTGCTGTTCTGCTCCT。

Western-Blot 方法检测:剪取骨骼肌组织块,加入预冷的含 1% PMSF 的 RIPA 裂解液低温裂解,离心,提取总蛋白,按 BCA 试剂盒说明进行蛋白含量测定,配制十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离胶、浓缩胶,进行电泳、转膜、封闭,分别将聚偏氟乙烯膜用稀释好的 AMPKα, p-AMPKα, PGC-1α(1:1 000,5%脱脂奶粉稀释)进行孵育,4℃摇荡过夜,再用荧光二抗(1:5 000 稀释)室温孵育 1.5 h。电化学发光(ECL)显色,凝胶成像仪曝光成像。ImageJ 软件分析条带灰度,并进行半定量分析处理。使用 GraphPadPrism6 软件进行数据管理并制图。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组数据比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Dunnett 法或独立样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对肥胖小鼠的体质量和摄食量的影响 人参

皂苷 Rb1 干预后,自给药后第 5 周开始小鼠体质量与模型对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。整个实验过程中模型对照组小鼠体质量平均增加了 9.50 g,显著高于正常对照组(1.40 g),差异有统计学意义($P < 0.05$)。二甲双胍组小鼠体质量减轻了 0.63 g,人参皂苷 Rb1 小鼠体质量增加了 1.04 g,二者与模型对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。模型对照组的小鼠摄食量显著高于正常对照组小鼠($P < 0.05$)。与模型对照对照比较,二甲双胍组(自第 6 周起)及人参皂苷 Rb1 组(从第 1 周起)小鼠摄食量与模型对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1A~C。

2.2 对肥胖小鼠总脂肪、筋肌组织含量的影响 各高脂饲料喂养小鼠筋肌组织含量则显著低于正常对照组,体脂含量均显著高于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。药物干预 8 周后,二甲双胍组、人参皂苷 Rb1 组体脂含量分别为 19.50%,20.91%,较模型对照组(30.46%)明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。体筋肌含量分别为 72.64%,72.61%,显著高于模型对照组(60.02%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2A~B。

2.3 调节肥胖小鼠血脂水平及游离脂肪酸水平

模型对照组小鼠血脂水平异常,表现为 TC、TG、LDL-C 水平升高,HDL-C 水平降低,与正常对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),药物干预 8 周后,人参皂苷 Rb1 能够显著降低 TG、LDL-C 水平,增加血清 HDL-C 水平,与模型对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与正常对照组小鼠比较,模型对照组小鼠 FFA 水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。药物干预 8 周后,二甲双胍及人参皂苷 Rb1 均能够显著降低肥胖小鼠 FFA 水平,与模型对照组比较均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 3A~E。

2.4 改善肥胖小鼠胰岛素敏感性 模型对照组小鼠各时间点血糖及曲线下面积明显高于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。给药 4 周时,二甲双胍组在 30 min 和 60 min 时间点能明显降低小鼠血糖水平,其曲线下面积亦显著低于模型对照组,而人参皂苷 Rb1 对肥胖小鼠 OGTT 各时间点及曲线下面积影响均不明显,差异无统计学意义($P > 0.05$)。给药第 8 周时,人参皂苷 Rb1 能显著降低小鼠糖负荷后血糖水平,并显著减少 GTT 曲线下面积,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 4。

2.5 提高小鼠运动耐力 模型对照组小鼠在第 3

和第7周的较同期正常对照组小鼠的力竭时间显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型对照组比较,二甲双胍及人参皂苷 Rb1 组小鼠力竭时间均延长,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图5。

2.6 对小鼠骨骼肌 AMPK α , p-AMPK α , PGC-1 α 基

因表达的影响 肥胖小鼠骨骼肌 AMPK α 、PGC-1 α 表达均下调;与模型对照组比较,二甲双胍组与人参皂苷 Rb1 组大鼠骨骼肌 AMPK α 和 PGC-1 α mRNA 的表达则明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图6。

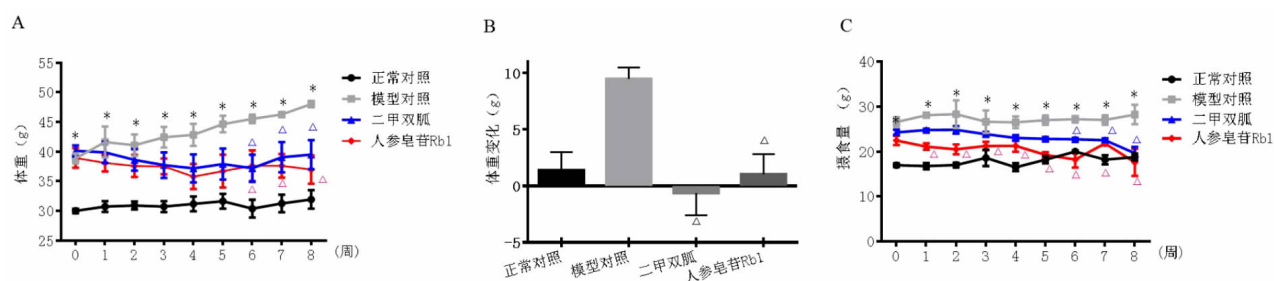


图1 各组小鼠体质量及摄食量的变化

注:与正常对照比较,* $P < 0.05$;与模型对照比较, $\Delta P < 0.05$ 。各组小鼠体质量(A),体质量变化(B),及摄食量(C)的比较

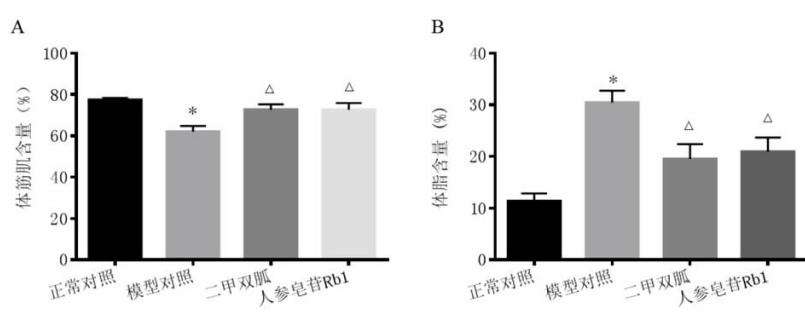


图2 人参皂苷 Rb1 对肥胖小鼠体成分的影响

注:与正常对照比较,* $P < 0.05$;与模型对照比较, $\Delta P < 0.05$ 。各组小鼠体筋肌含量(A)及体脂含量(B)的比较

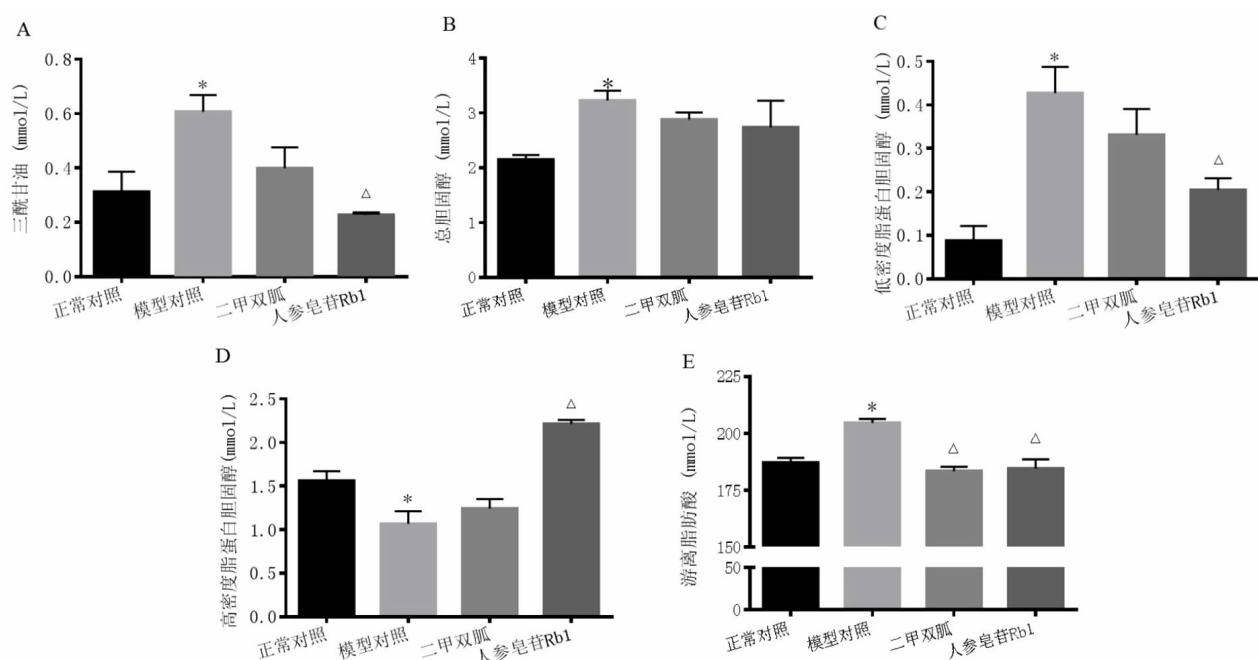


图3 人参皂苷 Rb1 对肥胖小鼠血脂水平及血清游离脂肪酸的影响

注:与正常对照比较,* $P < 0.05$;与模型对照比较, $\Delta P < 0.05$ 。各组小鼠三酰甘油(A),总胆固醇(B),低密度脂蛋白胆固醇(C),高密度脂蛋白胆固醇(D)及血清游离脂肪酸(E)的比较

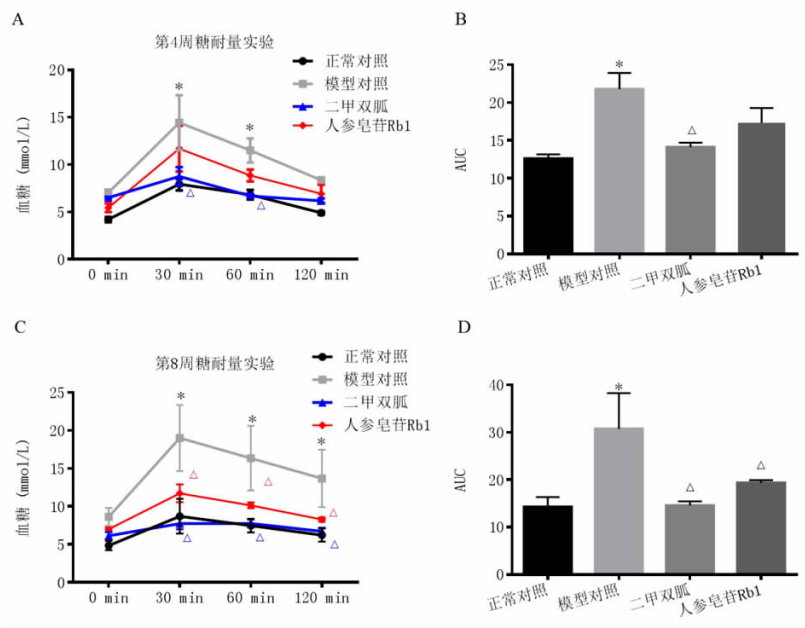


图4 人參皂昔 Rb1 对肥胖小鼠口服糖耐量的影响

注:与正常对照比较,* $P<0.05$;与模型对照比较,Δ $P<0.05$ 。各组小鼠第4周糖耐量实验(A)及其曲线下面积(B);第8周糖耐量实验(C)及其曲线下面积(D)的比较

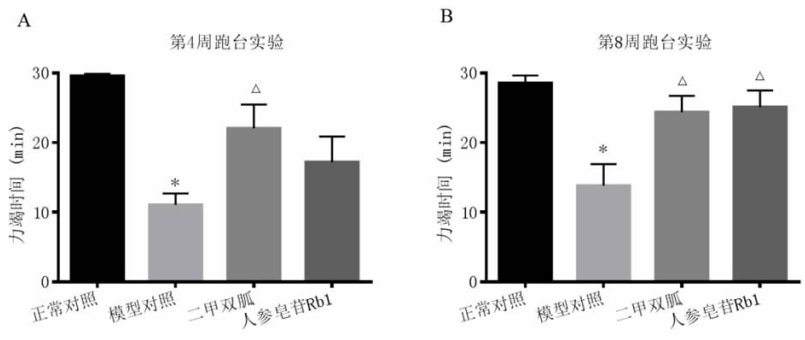


图5 人參皂昔 Rb1 对肥胖小鼠骨骼肌耐力的影响

注:与正常对照比较,* $P<0.05$;与模型对照比较,Δ $P<0.05$ 。各组小鼠第4周跑台实验(A)与第8周跑台实验(B)的比较

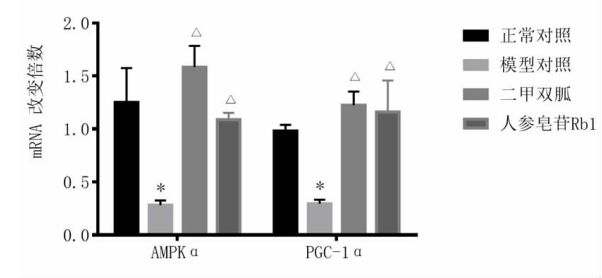


图6 人參皂昔 Rb1 对肥胖小鼠骨骼肌 AMPKα 和 PGC-1α 基因表达的影响

注:与正常对照比较,* $P<0.05$;与模型对照比较,Δ $P<0.05$

2.7 对小鼠骨骼肌 AMPKα, p-AMPKα, PGC-1α 蛋白表达的影响 与正常对照组比较,模型对照组小鼠骨骼肌 AMPKα, p-AMPKα, PGC-1α 蛋白表达量明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型对照组比较,二甲双胍组与人參皂昔 Rb1 组大鼠骨骼肌 AMPKα, p-AMPKα, PGC-1α 蛋白表达量均显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图7。

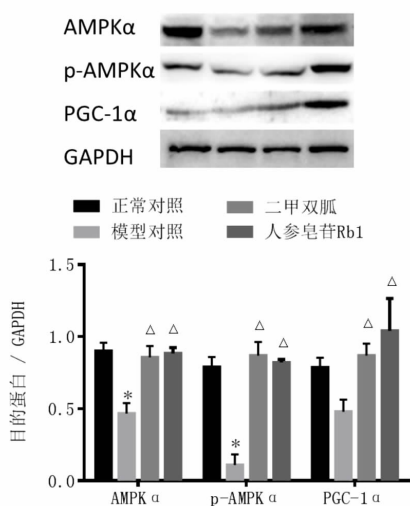


图7 人參皂昔 Rb1 对肥胖小鼠骨骼肌 AMPKα, p-AMPKα 和 PGC-1α 蛋白表达的影响

注:与正常对照比较,* $P<0.05$;与模型对照比较,Δ $P<0.05$

3 讨论

IR 为机体对正常剂量的胰岛素产生低于正常生物学效应的一种状态。从量化的角度看,骨骼肌是体内利用血糖最重要的组织,是周围 IR 的主要靶位,解决骨骼 IR 的问题对于改善肥胖、糖尿病等个体的代谢状态非常关键^[5]。本研究显示高脂饲料喂养小鼠 12 周后,与普通饲料喂养的小鼠比较,形态学方面表现为肥胖,体质分析显示中脂肪成分含量增多,存在明显的 IR,高脂血症,血清游离脂肪酸水平明显升高等表现。

人参皂苷 Rb1 是人参中的主要活性成分之一。中药人参的抗糖尿病作用机制涉及到机体糖脂代谢调节途径的多个环节^[6]。本研究结果显示,人参皂苷 Rb1 灌胃 8 周能够显著降低肥胖小鼠体质量,减少肥胖小鼠的体脂含量,调节肥胖小鼠的血脂代谢紊乱状态,并改善其胰岛素敏感,其作用与阳性药物二甲双胍类似,与以往研究结果一致^[7]。在此基础上,本研究还发现人参皂苷 Rb1 能够改善肥胖小鼠体成分,增加肌组织含量的趋势,并能增加其骨骼肌耐力,说明人参皂苷 Rb1 改善肥胖小鼠 IR 状态的作用除了与上调脂肪细胞过氧化物酶增殖体激活受体 γ 促进脂肪细胞分化^[8],上调脂肪细胞葡萄糖转运体的表达,促进葡萄糖的消耗利用^[9],抑制炎症反应及氧化应激状态等有关^[10],与调节骨骼肌能量物质的代谢亦有一定的关系。

血浆游离脂肪酸(FFA)升高是 T2DM 和肥胖的临床特征,是导致 IR 的决定性因素^[11]。因为血循环 FFA 含量升高导致骨骼肌细胞内 FFA 水平升高及蓄积,可显著降低胰岛素刺激的骨骼肌葡萄糖摄取和利用,影响骨骼肌的能量代谢,引起骨骼肌 IR 的发生^[12-13]。本研究显示,与模型对照组比较,人参皂苷 Rb1 能够显著降低血清游离脂肪水平,从而进一步改善骨骼肌的能量物质的代谢。

因此,在药效基础上,本研究进一步检测骨骼肌能量代谢的重要调节因子 AMPK 和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1α (PGC- 1α) 的变化。骨骼肌是机体糖和脂质有氧氧化的主要组织,在调节全身能量代谢过程中发挥着重要作用。研究表明,AMPK 是骨骼肌的能量感受器,能够调节机体能量代谢^[14],因此有学者认为 AMPK 在代谢性疾病、能量代谢紊乱等方面是一个有力的潜在靶点。作为能量代谢调节的关键递质,AMPK 活化通过增强骨骼肌细胞葡萄糖摄取和氧化,增加脂肪酸的氧化率,同时抑制肌糖原合成和促进糖原的分解

等^[15],在骨骼肌能量代谢中发挥着至关重要的作用,与骨骼肌 IR 关系密切。有研究显示,骨骼肌组织过表达 AMPK 可增加脂肪酸氧化,并防止高脂饮食诱导的骨骼肌脂质沉积^[16]。PGC- 1α 可调节能量代谢、诱导线粒体生物合成。有研究证实骨骼肌中的 PGC- 1α 可维持糖代谢平衡,并在骨骼肌和胰岛之间建立了细胞因子介导的联系^[17]。而 AMPK 作为 PGC- 1α 的重要调节因子,可活化 PGC- 1α ,可增强骨骼肌线粒体发生,并促进脂肪酸氧化^[18]。因此,激活的 AMPK 不仅能通过促进葡萄糖转运体的表达增加及其向胞膜的囊泡转运来增加骨骼肌细胞对葡萄糖的摄取^[19];还能通过调节 PGC- 1α 促进线粒体氧化呼吸链活动性来改善机体 IR 状态^[20]。本研究显示,模型对照组小鼠骨骼肌组织 AMPK 和 PGC- 1α 基因表达均呈下调趋势,且 PGC- 1α 活性变化趋势与 AMPK 的活化趋势一致,人参皂苷 Rb1 干预 8 周后,二者均被明显上调。蛋白水平的结果与基因水平一致,且活化的 AMPK(p-AMPK)蛋白表达显著增加,说明人参皂苷 Rb1 能够激活 AMPK-PGC- 1α 的联动反应,进而影响骨骼肌线粒体状态及能量代谢水平,从而改善肥胖小鼠模型的 IR。

综上所述,人参皂苷 Rb1 对肥胖小鼠有明显减重、降脂、改善骨骼肌 IR 的作用,其机制可能与降低 FFA,上调骨骼肌线粒体 AMPK 及 PGC- 1α 基因的表达,激活 AMPK 从而增强了线粒体功能及脂肪酸 β 氧化,最终减少了骨骼肌脂质沉积有关,该研究发

参考文献

- [1] American Diabetes Association. Obesity Management for the Treatment of Type 2 Diabetes; Standards of Medical Care in Diabetes-2019 [J]. Diabetes Care, 2019, 42 (Suppl 1): S81-S89.
- [2] 穆倩倩,赵丹丹,方心,等.从骨骼肌能量代谢浅析肝肾脾肾同调防治糖尿病[J].中华中医药杂志,2015,30(11):3860-3863.
- [3] 王璐,张鹏,刘红菊,等. AMPK α 及 p-AMPK α 在运动过程中不同纤维类型骨骼肌中的表达变化[J]. 中国应用生理学杂志, 2013, 29(1): 4-5, 24.
- [4] Jia JM, Wang ZQ, Wu LJ, et al. Advance of pharmacological study on ginsenoside Rb1 [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008, 33(12): 1371-1377.
- [5] 殷剑,张华. 糖尿病病理综述[J]. 药品评价, 2012, 9(25): 35-41.
- [6] Luo JZ, Luo L. Ginseng on hyperglycemia: effects and mechanisms [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2009, 6(4): 423-427.
- [7] 尚文斌,郭超,赵娟,等. 人参皂苷 Rb1 通过上调脂肪组织葡萄糖转运体促进葡萄糖消耗[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4448-

- 4452.
- [8] Chan LS, Yue PY, Kok TW, et al. Ginsenoside-Rb1 promotes adipogenesis through regulation of PPAR γ and microRNA-27b[J]. *Horm Metab Res*, 2012, 44(11): 819-824.
- [9] Shang WB, Guo C, Zhao J, et al. Ginsenoside Rb1 upregulates expressions of GLUTs to promote glucose consumption in adipocytes[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2014, 39(22): 4448-4452.
- [10] Chen J, Ren J, Loo WTY, et al. Lysyl oxidases expression and histopathological changes of the diabetic rat nephron[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 2431-2441.
- [11] Boden G. Free fatty acids(FFA), a link between obesity and insulin resistance[J]. *Front Biosci*, 1998, 3: d169-175.
- [12] Boden G. Effects of free fatty acids(FFA) on glucose metabolism: significance for insulin resistance and type 2 diabetes[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2003, 111(3): 121-124.
- [13] Park SY, Kim MH, Ahn JH, et al. The Stimulatory Effect of Essential Fatty Acids on Glucose Uptake Involves Both Akt and AMPK Activation in C2C12 Skeletal Muscle Cells[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2014, 18(3): 255-261.
- [14] Hardie DG, Sakamoto K. AMPK: a key sensor of fuel and energy status in skeletal muscle[J]. *Physiology (Bethesda)*, 2006, 21: 48-60.
- [15] O'Neill HM, Holloway GP, Steinberg GR. AMPK regulation of fatty acid metabolism and mitochondrial biogenesis: implications for obesity[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 366(2): 135-151.
- [16] Barnes BR, Marklund S, Steiler TL, et al. The 5'-AMP-activated protein kinase gamma3 isoform has a key role in carbohydrate and lipid metabolism in glycolytic skeletal muscle[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(37): 38441-38447.
- [17] Handschin C. The biology of PGC-1 α and its therapeutic potential[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2009, 30(6): 322-329.
- [18] Cantó C, Auwerx J. PGC-1 α , SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2009, 20(2): 98-105.
- [19] Viollet B, Lantier L, Devin-Leclerc J, et al. Targeting the AMPK pathway for the treatment of Type 2 diabetes[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2009, 14: 3380-3400.
- [20] Kukidome D, Nishikawa T, Sonoda K, et al. Activation of AMP-activated protein kinase reduces hyperglycemia-induced mitochondrial reactive oxygen species production and promotes mitochondrial biogenesis in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Diabetes*, 2006, 55(1): 120-127.
- (2018-09-22 收稿 责任编辑: 杨觉雄)
- (上接第 851 页)
- [9] 牛雯颖, 李诗畅, 袁茵, 等. 丹参饮对两种血瘀模型大鼠红细胞膜组分的影响[J]. *中医药信息*, 2017, 34(6): 19-22.
- [10] 么秀洁, 赵志梅, 夏天, 等. 炎症与血栓形成[J]. *血栓与止血学*, 2015, 21(3): 190-192.
- [11] 陈聂, 江涛. 葡萄籽原花青素对博来霉素诱导的大鼠实验性肺纤维化的治疗作用[J]. *中国新药与临床杂志*, 2016, 35(1): 35-39.
- [12] 牛雯颖, 冯月男, 卞敬琦, 等. 补阳还五汤对寒凝血瘀模型大鼠血液相关指标的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(10): 3690-3693.
- [13] 齐田田, 包怡敏, 刘爱华. 丹参水溶性成分抗心肌缺血再灌注的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(24): 217-223.
- [14] Huang ZS, Zeng CL, Zhu LJ, et al. Salvianolic acid A inhibits platelet activation and arterial thrombosis via inhibition of phosphoinositide 3-kinase[J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(6): 1383-1393.
- [15] 崔国祯, 陈言, 郭琳, 等. 丹参素抗血小板凝聚作用的靶点研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2017, 28(4): 450-453.
- [16] 王海涛, 宁一宁, 王哲, 等. 基于活血、降脂活性丹参当归配伍优化实验研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(12): 47-49.
- [17] 李玉杰, 姜钧文. 活血化瘀药在治疗心肌缺血再灌注损伤方面的研究概况[J]. *中医药临床杂志*, 2017, 29(11): 1976-1979.
- [18] 董莉, 易青, 王悦喜. 三味檀香胶囊对冠心病心绞痛患者血脂及血流变指标的影响[J]. *微循环学杂志*, 2013, 23(4): 32-33, 36.
- [19] 张明发, 沈雅琴. 砂仁临床药理作用的研究进展[J]. *抗感染药学*, 2013, 10(1): 8-13.
- [20] 吴师竹. 砂仁对血小板聚集功能的影响[J]. *中药药理与临床*, 1990, 6(5): 32-33.
- [21] 李庆生, 吴竞生. 纤维连接蛋白在止血及血栓形成中的作用[J]. *血栓与止血学*, 2005, 11(1): 38-39.
- [22] Wu YP, Vink T, Schiphorst M, et al. Platelet thrombus formation on collagen at high shear rates is mediated by von Willebrand factor-glycoprotein Ib interaction and inhibited by von Willebrand factor-glycoprotein IIb/IIIa interaction[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(6): 1661-1667.
- (2018-04-09 收稿 责任编辑: 杨觉雄)