

研究论文

Research Article

罗汉果甜苷促进高脂饮食诱导小鼠的脂质代谢

王永浪* 韦义荣* 韦丽丽 何翠梅 徐慧凌 黄艳娜 蒋钦杨**

广西大学动物科学技术学院, 南宁, 530004

* 同等贡献作者

** 通信作者, jiangqinyang@126.com

摘要 为探究罗汉果甜苷对高脂饮食诱导的小鼠(*Mus musculus*)生长性能及脂质代谢的影响, 实验选取 40 只初始体重约为 14 g 的 21 日龄雄性 KM 小鼠, 随机分为 4 个处理组($n=10$ 只/组), 即对照组(CK)、低浓度甜苷组(LSG)、中浓度甜苷组(MSG)和高浓度甜苷组(HSG)。预实验 7 d, 正式实验 56 d, 实验结束后逐只称重并测定血糖浓度, 同时采集称量棕色脂肪、皮下脂肪、腹部脂肪和肝脏等组织脏器的重量; 选取棕色脂肪、皮下脂肪石蜡切片进行 HE 染色以及对肝组织石蜡切片进行油红 O 染色; 通过实时定量 PCR(real-time quantitative PCR, RT-qPCR)检测 *UCP1*、*PRDM16*、*PGC-1 α* 及脂肪代谢信号通路各相关基因(*AMPK*、*PPAR γ* 、*C/EBP α*) 在 CK 组和 HSG 组的棕色脂肪、腹部脂肪和皮下脂肪中的表达情况。结果表明, 灌胃 100、300、600 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的罗汉果甜苷溶液可降低高脂饮食诱导小鼠的体重、肝重及血糖, 并使高脂饮食诱导小鼠棕色脂肪、皮下脂肪和肝脏脂肪的沉积得到改善。RT-qPCR 表明, HSG 组的棕色脂肪、腹部脂肪和皮下脂肪中白色脂肪棕色化相关基因(*UCP1*、*PRDM16*、*PGC-1 α* 、*AMPK*、*PPAR γ* 、*C/EBP α*) 的 mRNA 相对表达量显著上调($P<0.05$)。本研究可为罗汉果甜苷及其相关产业的发展提供重要科学依据, 为进一步解析罗汉果甜苷调控脂质代谢的分子机制提供理论参考。

关键词 罗汉果甜苷; 小鼠; 脂质代谢; 脂肪类型转化

Mogroside Promotes Lipid Metabolism in *Mus musculus* Induced by High-fat Diet

WANG Yonglang* WEI Yirong* WEI Lili HE Cuimei XU Huiling HUANG Yanna JIANG Qinyang**

College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning, 530004

* These authors contributed equally to this work

** Corresponding author, jiangqinyang@126.com

DOI: 10.13417/j.gab.043.000828

Abstract In order to study the effect of mogroside on growth performance and lipid metabolism in high-fat diet *Mus musculus*, forty 21-day-old male KM *Mus musculus* (weighing about 14 g) were selected in this experiment, and they were randomly divided into four treatment groups ($n=10$ animals/group), i. e., control group (CK), low concentration sweet glycoside group (LSG), medium concentration sweet glycoside group (MSG) and high concentration sweet glycoside group (HSG). The preliminary test lasted for 7 days, and the formal test lasted for 56 days. At the end of the test period, the blood glucose concentration was measured after weighing one by one, and the weights of brown adipose tissue, subcutaneous adipose tissue and liver tissues were collected and weighed; The paraffin sections of brown adipose tissue and subcutaneous adipose tissue were stained with HE and the liver tissue paraffin sections were stained with oil red O. The expression of *UCP1*, *PRDM16*, *PGC-1 α* , and the genes (*AMPK*, *PPAR γ* , and *C/EBP α*) relating to the fat metabolism signaling pathway in brown adipose tissue, abdominal adipose tissue, and subcutaneous fat in the CK group and HSG group was detected by real-time quantitative PCR(RT-qPCR). The results showed that the body weight, liver weight and blood glucose of *Mus*

基金项目: 本研究由广西自然科学基金项目(2022GXNSFAA035525)和广西大学“大学生创新创业训练计划”项目(S202210593311)共同资助。

引用格式: 王永浪, 韦义荣, 韦丽丽, 等, 2024. 罗汉果甜苷促进高脂饮食诱导小鼠的脂质代谢. 基因组学与应用生物学, 43(5): 828-838. [WANG Y L, WEI Y R, WEI L L, et al., 2024. Mogroside promotes lipid metabolism in *Mus musculus* induced by high-fat diet. Genomics and Applied Biology, 43(5): 828-838.]

通信作者简介: 蒋钦杨, 研究员, 从事动物遗传育种研究。

收稿日期: 2023-05-30; 接受日期: 2023-09-04

musculus fed with 100, 300, 600 mg·kg⁻¹·d⁻¹ mogrosin solution decreased, and the deposition of brown adipose tissue, subcutaneous adipose tissue and liver adipose tissue in *Mus musculus* fed with high-fat diet increased. RT-qPCR showed that the expression of *UCP1*, *PRDM16*, *PGC-1α*, *AMPK*, *PPARγ* and *C/EBPα* mRNA in brown adipose tissue, abdominal adipose tissue and subcutaneous adipose tissue significantly increased in HSG group ($P < 0.05$). This study can provide an important scientific basis for the development of mogrosin and its related industries, and provide a theoretical reference for the further analysis of the molecular mechanism of mogrosin in regulating lipid metabolism.

Keywords Mogrosin; *Mus musculus*; Fat metabolism; Fat type conversion

罗汉果(*Siraitia grosvenorii*), 别名拉汗果、假苦瓜、金不换等, 被誉为“神仙果”, 为葫芦科(Cucurbitaceae)多年生藤本植物的果实(蓝福生, 2020)。罗汉果含有甜苷、黄酮、多糖、油脂、蛋白质及氨基酸等多种活性成分(唐昀彤等, 2021)。其中, 罗汉果甜苷是一种葫芦烷三萜苷类化合物, 其作为罗汉果的主要活性成分的同时, 亦是罗汉果甜味物质来源的主要成分(戴胜和汪惠丽, 2023)。罗汉果甜苷味甜, 热量低, 具有显著的降糖效果(刘灿等, 2018), 并能抑制内脏中脂肪脂质的沉积(宋晓婉, 2019)。罗汉果甜苷在体内消化后会转化为罗汉果醇, 从而抑制糖异生血糖调节途径(Luo et al., 2016), 同时罗汉果甜苷能够修复损伤的胰腺B细胞, 增加胰岛素分泌量(Qi et al., 2008), 从而达到降低血糖的效果。刘暄(2020)的研究表明, 添加罗汉果甜苷的2型糖尿病大鼠细胞的葡萄糖消耗量显著高于体外棕榈酸诱导人体HepG2胰岛素抵抗模型组细胞的。宋晓婉(2019)通过研究认为罗汉果甜苷对肥胖及其相关的胰岛素抵抗的改善作用很可能与皮下脂肪棕色化的诱导有关。同时, 罗汉果甜苷也是罗汉果主要的抗氧化活性成分, 其可清除氧自由基和抗脂质过氧化, 在预防脂肪炎症方面具有良好的应用前景(赵燕等, 2012)。非酒精性脂肪肝与肝脏体积增加有关, 罗汉果甜苷可以通过抑制脂肪滴在肝脏中的形成来防止非酒精性脂肪肝的发展, 从而达到保护肝脏的效果(Zhang et al., 2018)。章冬梅等(2022)研究证明高糖可刺激肝脏脂质从头合成而引起脂肪肝, 而罗汉果甜苷可从降低血糖、减少脂肪沉积两个方面降低脂肪肝的发生, 以及通过抑制肝脏细胞脂肪过氧化来保护肝脏。

UCP1、*PRDM16*、*PGC-1α* 基因是白色脂肪棕色化的标记分化基因(王爱超等, 2020), *UCP1* 基因是棕色脂肪的特异性基因, *UCP1* 蛋白能够通过解耦联作用降低膜电位, 形成质子渗漏从而介导细胞产热(方勤圆等, 2023)。*PGC-1α* 可通过在棕色脂

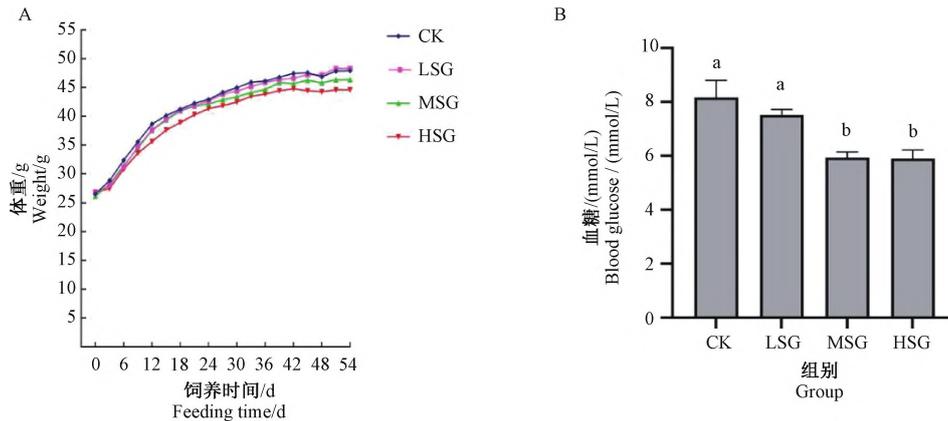
肪组织中对冷诱导蛋白的表达, 增加线粒体内解耦联蛋白(uncoupling protein, UCP)的表达量(韩燕红和张瑞霞, 2021)。*PRDM16* 则可以提高 *UCP1* 启动子区的转录活性, 增加能量消耗(张小清等, 2021), 同时对原代脂肪细胞棕色化表型的形成和皮下脂肪内米色脂肪的形成有重要作用(徐宜兰和方启晨, 2017)。*AMPK* 是调节细胞能量代谢的中心点和能量状态的主要传感器(Herzig and Shaw, 2018)。*AMPK* 作为 *PGC-1α* 的上游调控因子, 可以直接使 *PGC-1α* 磷酸化, 增强其转录活性进而促进线粒体合成, 调节能量代谢(林致辉等, 2020)。张燕萍等(2020)的研究结果表明鸡 *C/EBPα* 基因在鸡肝细胞中调控糖脂代谢, 影响其对糖的吸收及脂肪的代谢。

目前有关罗汉果甜苷在小鼠(*Mus musculus*)生长及脂肪组织类型转化等方面的研究报道较少。本实验通过对小鼠灌胃不同浓度的罗汉果甜苷来研究其对小鼠生长性能和脂肪组织类型转化的影响及作用机制, 以期开发罗汉果甜苷相关的降糖、降脂产品提供理论依据和应用参考。

1 结果

1.1 罗汉果甜苷抑制高脂饮食诱导小鼠体重的增长

根据每3d称重一次的体重数据和解剖数据绘制生长曲线(图1), 并对解剖相关数据进行分析(表1)。由图1可知, 灌胃100、300、600 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 罗汉果甜苷均可使高脂饮食诱导小鼠体重减轻, 其中MSG、HSG两组小鼠的血糖浓度显著低于LSG组、CK组的($P < 0.05$)。由表1可知, LSG、MSG、HSG三组小鼠的体重、肝重相较于CK组均有下降趋势, 其中MSG、HSG两组小鼠的体重显著低于LSG组、CK组的($P < 0.05$), HSG组的小鼠肝重显著低于其余三组的($P < 0.05$)。并且由表1可知, 实验组和对照组的脂肪组织重量无显著变化。



图中的小写字母有差异时,则差异显著($P < 0.05$),而当小写字母无异时,则差异不显著($P > 0.05$);CK为对照组,LSG为低浓度甜苷组,MSG为中浓度甜苷组,HSG为高浓度甜苷组。

When the lower case letters in the figure are different, the difference is significant ($P < 0.05$), but when the lower case letters are not different, the difference is not significant ($P > 0.05$); CK is the control group, LSG is the low concentration sweet glycoside group, MSG is the medium concentration sweet glycoside group, HSG is the high concentration sweet glycoside group.

图1 小鼠生长曲线与小鼠血糖浓度

(A) 小鼠生长曲线; (B) 小鼠血糖浓度

Figure 1 Growth curve and blood glucose concentration of *Mus musculus*

(A) *Mus musculus* growth curve; (B) *Mus musculus* blood glucose concentration

表1 小鼠解剖相关数据

Table 1 Data on *Mus musculus* anatomy

组别 Group	活重/g Live-weight/g	肝/g Liver/g	棕色脂肪/g Brown adipose tissue/g	皮下脂肪/g Subcutaneous adipose tissue/g	腹部脂肪/g Abdominal adipose tissue/g
CK	45.860±1.585a	1.923±0.124a	0.229±0.039a	1.047±0.227a	2.007±0.658a
LSG	45.474±0.873a	1.884±0.220a	0.228±0.044a	1.020±0.350a	1.981±0.514a
MSG	43.431±2.644b	1.816±0.107ab	0.193±0.040a	0.850±0.091a	1.842±0.417a
HSG	42.365±1.800b	1.669±0.091b	0.234±0.097a	0.894±0.182a	1.464±0.183a

注:表中数据以“平均值±标准差”表示,当同一列数据的小写字母有差异时,则差异显著($P < 0.05$),而当小写字母无异时,则差异不显著($P > 0.05$);CK为对照组,LSG为低浓度甜苷组,MSG为中浓度甜苷组,HSG为高浓度甜苷组。

Note: The data in the table are expressed as "mean ± standard deviation", when the lower case letters of the same column are different, the difference is significant ($P < 0.05$), but when the lower case letters are the same, the difference is not significant ($P > 0.05$); CK is the control group, LSG is the low concentration sweet glycoside group, MSG is the medium concentration sweet glycoside group, HSG is the high concentration sweet glycoside group.

1.2 罗汉果甜苷减少高脂饮食诱导小鼠白色脂肪及肝脏脂肪的沉积

各组小鼠的棕色脂肪和皮下脂肪 HE 染色结果,以及肝组织油红 O 染色结果分别如图 2、图 3 及图 4 所示。由图 2 可知,棕色脂肪组织主要由多泡脂肪细胞构成,脂肪细胞内散布大小不一的脂肪空泡;与 CK 组相比,LSG、MSG、HSG 三组小鼠棕色脂肪组织中主要为小空泡,大空泡相对较少,且 HSG 组中的空泡明显小于其余三组的。由图 3 可知,LSG、

MSG、HSG 三组的小鼠皮下脂肪细胞均小于 CK 组的。油红 O 染色结果(图 4)显示,肝脏组织细胞中脂滴呈橘红色,核呈蓝色,随着罗汉果甜苷浓度的增加,CK 组、LSG 组、MSG 组、HSG 组的肝脏中脂滴呈明显的依次减少趋势。为了更直观地分析罗汉果甜苷对脂质代谢的调控作用及对高脂饮食诱导小鼠脂肪肝的改善作用,利用 Image J 对皮下脂肪 HE 染色结果与肝组织油红 O 染色结果分别进行脂滴大小计算与油红 O 染色面积分析,结果如图 5 所示,

与 CK 组相比, LSG、MSG、HSG 三组的脂滴与油红 O 染色面积均偏小, 且差异显著($P < 0.05$)。

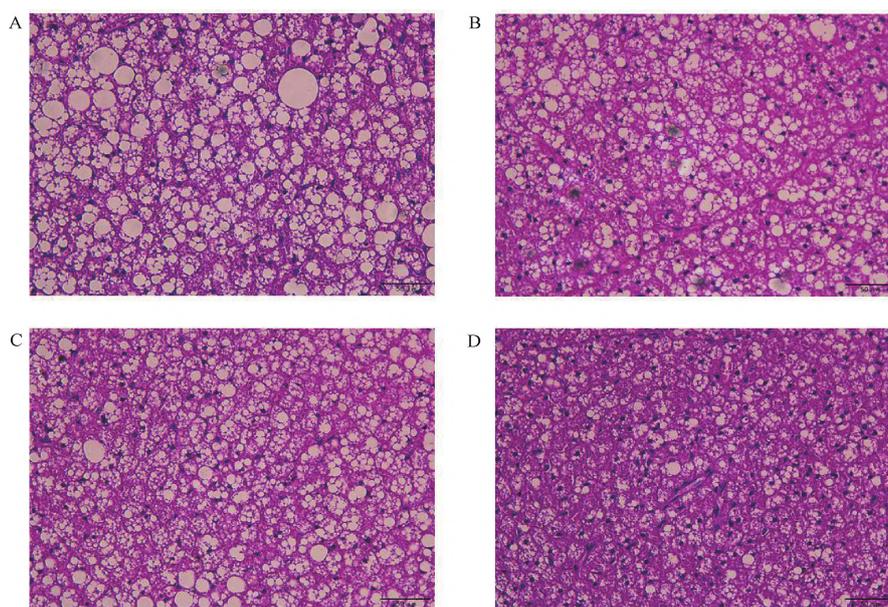


图2 高脂饮食诱导 KM 小鼠棕色脂肪石蜡切片 HE 染色结果对比 (H. E., 400×)
(A) 对照组 (CK); (B) 低浓度甜苷组 (LSG); (C) 中浓度甜苷组 (MSG);
(D) 高浓度甜苷组 (HSG)

Figure 2 HE staining results on paraffin sections of brown adipose tissue in KM *Mus musculus* induced by high-fat diet (H. E., 400×)

(A) Control group (CK); (B) Low concentration sweet glycoside group (LSG);
(C) Medium concentration of sweet glycoside group (MSG); (D) High concentration sweet glycoside group (HSG)

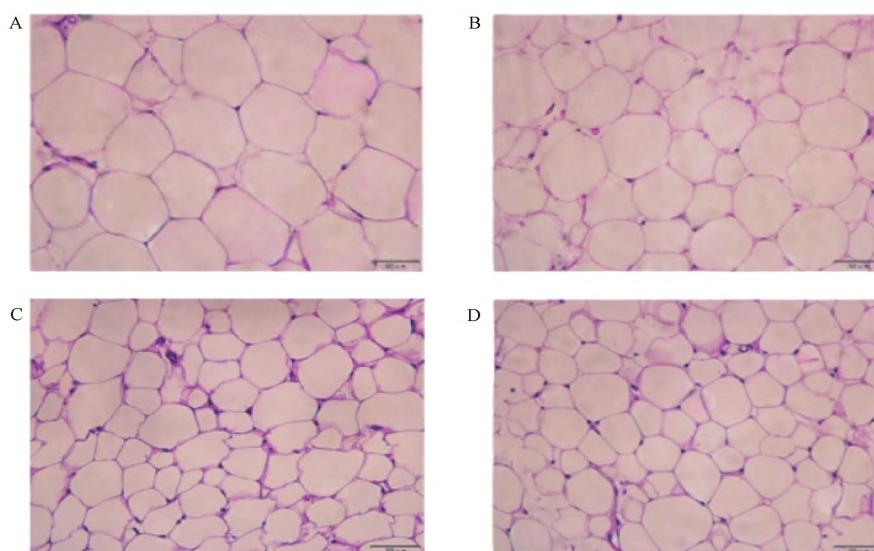


图3 高脂饮食诱导 KM 小鼠皮下脂肪石蜡切片 HE 染色结果对比 (H. E., 400×)
(A) 对照组 (CK); (B) 低浓度甜苷组 (LSG); (C) 中浓度甜苷组 (MSG);
(D) 高浓度甜苷组 (HSG)

Figure 3 HE staining results on paraffin sections of subcutaneous adipose tissue in KM *Mus musculus* induced by high-fat diet (H. E., 400×)

(A) Control group (CK); (B) Low concentration sweet glycoside group (LSG);
(C) Medium concentration of sweet glycoside group (MSG); (D) High concentration sweet glycoside group (HSG)

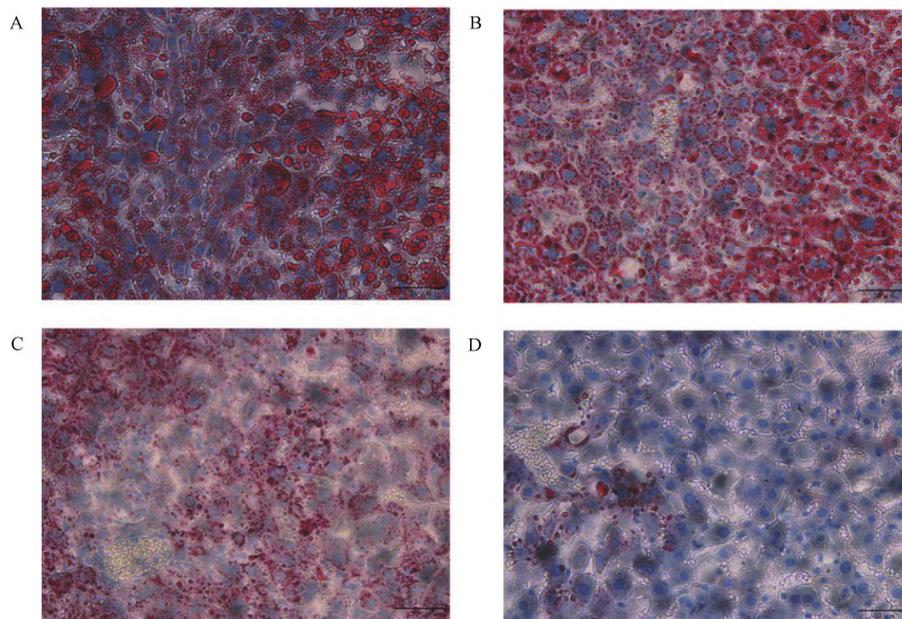
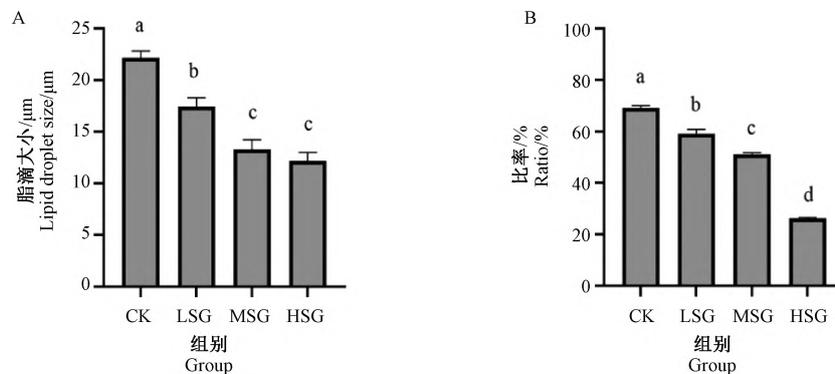


图4 高脂饮食诱导KM小鼠肝组织冷冻切片油红O染色结果对比(400×)
(A) 对照组(CK); (B) 低浓度甜苷组(LSG); (C) 中浓度甜苷组(MSG);
(D) 高浓度甜苷组(HSG)

Figure 4 Oil red O staining results of liver frozen sections in KM *Mus musculus* induced by high-fat diet (400×)

(A) Control group (CK); (B) Low concentration sweet glycoside group (LSG);
(C) Medium concentration of sweet glycoside group (MSG); (D) High concentration sweet glycoside group (HSG)



图中的小写字母有差异时,则差异显著($P < 0.05$),而当小写字母无异时,则差异不显著($P > 0.05$); CK为对照组,LSG为低浓度甜苷组,MSG为中浓度甜苷组,HSG为高浓度甜苷组。

When the lower case letters in the figure are different, the difference is significant ($P < 0.05$), but when the lower case letters are not different, the difference is not significant ($P > 0.05$); CK is the control group, LSG is the low concentration sweet glycoside group, MSG is the medium concentration sweet glycoside group, HSG is the high concentration sweet glycoside group.

图5 高脂饮食诱导KM小鼠皮下脂肪脂滴大小与肝组织油红O染色面积分析
(A) 脂滴大小分析; (B) 油红O染色面积分析

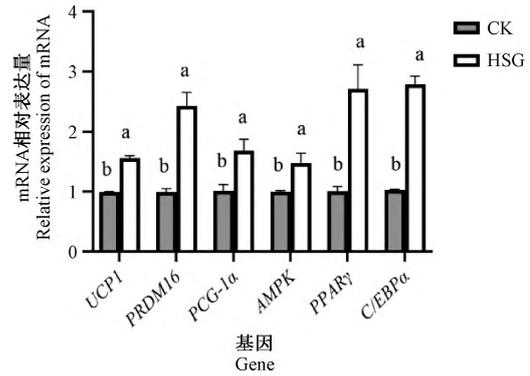
Figure 5 Analysis of subcutaneous adipose tissue lipid droplet size and liver tissue oil red O staining area in KM *Mus musculus* induced by high-fat diet
(A) Analysis of lipid droplet size; (B) Analysis of oil red O staining area

1.3 罗汉果甜苷促进高脂诱导小鼠棕色脂肪的脂质代谢

棕色脂肪各基因 mRNA 相对表达量如图 6 所示, 与 CK 组相比, HSG 组的棕色脂肪中的 *UCPI*、*PRDM16*、*PGC-1 α* 及通路关键基因 (*AMPK*、*PPAR γ* 、*C/EBP α*) 的 mRNA 相对表达量均显著提高 ($P < 0.05$)。

1.4 罗汉果甜苷促进高脂诱导小鼠白色脂肪的脂质代谢

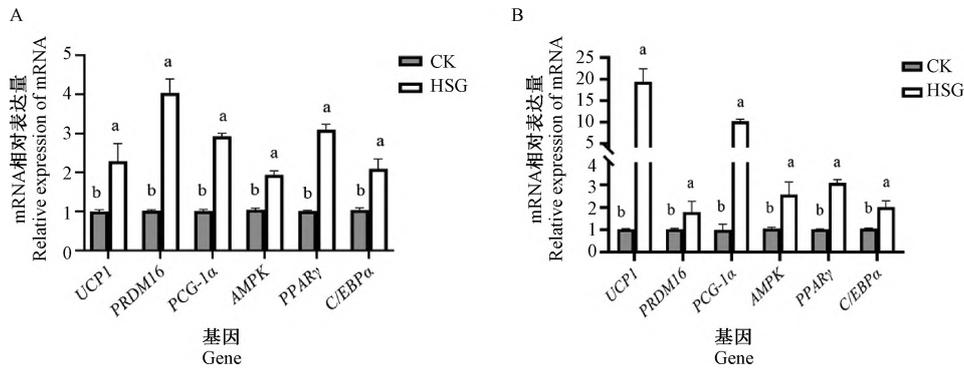
白色脂肪各基因 mRNA 相对表达量如图 7 所示, 与 CK 组相比, HSG 组的腹部脂肪、皮下脂肪中的白色脂肪棕色化标记基因 *UCPI*、*PRDM16*、*PGC-1 α* 及通路关键基因 (*AMPK*、*PPAR γ* 、*C/EBP α*) 的 mRNA 相对表达量均显著提高 ($P < 0.05$), 并且 HSG 组皮下脂肪中 *PGC-1 α* 和 *UCPI* 的表达量相较于 CK 组分别上调了 10 倍和 18 倍, 表明灌胃 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 罗汉果甜苷可能通过上调白色脂肪中 *UCPI* 等基因的表达量和激活白色脂肪棕色化信号通路来达到调节高脂饮食诱导小鼠脂肪能量代谢的目的。



图中的小写字母有差异时, 则差异显著 ($P < 0.05$), 而当小写字母无异时, 则差异不显著 ($P > 0.05$); CK 为对照组, HSG 为高浓度甜苷组。

When the lower case letters in the figure are different, the difference is significant ($P < 0.05$), but when the lower case letters are not different, the difference is not significant ($P > 0.05$); CK is the control group, HSG is the high concentration sweet glycoside group.

图 6 棕色脂肪各基因 mRNA 相对表达量
Figure 6 Relative expression of mRNA of each gene in brown adipose tissue



图中的小写字母有差异时, 则差异显著 ($P < 0.05$), 而当小写字母无异时, 则差异不显著 ($P > 0.05$); CK 为对照组, HSG 为高浓度甜苷组。

When the lower case letters in the figure are different, the difference is significant ($P < 0.05$), but when the lower case letters are not different, the difference is not significant ($P > 0.05$); CK is the control group, HSG is the high concentration sweet glycoside group.

图 7 白色脂肪各基因 mRNA 相对表达量
(A) 腹部脂肪; (B) 皮下脂肪

Figure 7 Relative expression of mRNA of each gene in white adipose tissue
(A) Abdominal adipose tissue; (B) Subcutaneous adipose tissue

2 讨论与结论

2.1 罗汉果甜苷对棕色脂肪代谢的促进作用

棕色脂肪组织是氧化脂肪与释放热量的场所, 其含有丰富的毛细血管, 并且棕色脂肪细胞中含有

大量线粒体, 细胞内脂肪颗粒少, 可通过产热来消耗能量, 是哺乳动物体内非战栗产热的主要来源 (罗献梅和陈代文, 2007)。*UCPI* 表达水平及活性、线粒体含量、游离脂肪酸氧化速率可以决定棕色脂肪细胞的活性, 其因素的变化可以激活棕色脂肪细

胞,使棕色脂肪细胞产热活性增加(关璐等,2022)。

其中UCP1作为产热调节的关键基因表达蛋白,参与解偶联介导的能量消耗蛋白,能够促进ATP合成过程中氧化磷酸化的解偶联,将流出的质子重新进入线粒体基质产生热能,使棕色脂肪组织减少对ATP产热的依赖,促进机体的能量代谢(Lu et al., 2019)。UCP1在棕色脂肪细胞中特异性高表达,是棕色脂肪细胞形成和活性评价的核心指标(Moisan et al., 2015)。有研究表明,将小鼠的UCP1基因敲除后,容易导致小鼠出现高脂饮食诱发的肥胖及相关代谢紊乱,如胰岛素抵抗和高脂血症(喻日成等, 2019)。棕色脂肪细胞的产热活性与其线粒体的含量和活性呈正相关,且棕色脂肪细胞中UCP1的表达水平提高,可以促进其线粒体发生 β -氧化,刺激线粒体的生物发生,使线粒体生物合成增加,从而加快线粒体选择性自噬,促进棕色脂肪细胞新生线粒体的合成,以维持棕色脂肪细胞中线粒体的动态平衡(Rahman and Kim, 2020)。

PGC-1 α 可以调节白色脂肪组织和棕色脂肪组织中的脂肪分化、生成,是二者分化的关键调节因子,通过在棕色脂肪组织中对冷诱导蛋白的表达,增加线粒体内解偶联蛋白(UCP)的表达量,有助于线粒体生成和提高棕色脂肪细胞的整体产热能力(Seale et al., 2008)。

PRDM16可以维持棕色脂肪细胞内脂滴和线粒体的形成,保持其特殊形态,同时促进相关基因的表达,对棕色脂肪细胞的产热功能具有重要作用,是棕色脂肪细胞分化过程的转录调控因子(Seale et al., 2007)。研究表明,棕色脂肪细胞中PRDM16基因的缺失,不仅导致棕色脂肪细胞内线粒体数量减少,而且导致产热基因(如PGC-1 α 、UCP1)、棕色脂肪特异性基因(如PPAR- α)及线粒体电子传递基因的mRNA水平和蛋白质水平的显著下降,从而引起其细胞氧化呼吸的减弱和产热功能的降低(姬凯茜等, 2019)。研究发现,棕色脂肪细胞特异性基因(PPAR- α 、PGC-1 α 和C/EBP- β)的启动子区和增强子区存在大量的PRDM16结合位点,PRDM16可以通过锌指结构域募集PPAR- α 、C/EBP- β 等相关基因到达其靶基因的增强子区,诱导PGC-1 α 和PPAR γ 的表达,随后PRDM16与PGC-1 α 和PPAR γ 结合,促进UCP1的表达,增加棕色脂肪基因启动子的活性和转录过程(Harms et al., 2015)。Iida等(2015)提出了PRDM16调控UCP1表达的多步骤模

型,认为在模板UCP1的参与下,PRDM16通过反应与MED1、PGC-1 α/β 二者结合,形成一种复杂的前起始复合物,其对促进UCP1的表达及调控棕色脂肪细胞的产热过程有重要作用。

罗汉果甜苷来源于广西作物罗汉果,可以调控代谢相关基因的表达来改善机体代谢紊乱,促进脂肪分解、抑制脂肪合成的相关基因表达(刘嘉昊等, 2020)。本研究中,HSG组小鼠体重显著降低,棕色脂肪重量占比上升;棕色脂肪细胞内空泡细胞明显小于CK组的,且HSG组小鼠的棕色脂肪中的UCP1、PRDM16、PGC-1 α 基因mRNA表达量显著升高。

综上所述,罗汉果甜苷可能通过对棕色脂肪细胞特异性基因(PGC-1 α 、PRDM16)和产热基因(UCP1)的调控来促进棕色脂肪的生成,从而引起棕色脂肪重量占比上升,以增加其能量代谢和产热功能,最终达到减轻小鼠体重的作用。

2.2 罗汉果甜苷对白色脂肪代谢的促进作用

白色脂肪组织是重要的储能器官,主要分布在腹部、皮下等,形态上以大单房细胞为主(樊德慧等, 2020),在摄入营养后以甘油三酯的形式储存葡萄糖和脂肪酸中所含的能量,并通过游离脂肪酸快速释放能量,以确保满足外周能量的需求(Qian et al., 2021)。此外,白色脂肪组织还是活跃的内分泌器官,可分泌各种激素和代谢物来调节身体能量平衡,参与机体的新陈代谢(Heinonen et al., 2020)。白色脂肪棕色化是指在环境或激素的刺激下,使白色脂肪细胞向米色脂肪细胞转变的同时增加产热和能量消耗的过程(季学涛等, 2023)。白色脂肪细胞专门储存化学能,米色细胞能够表达丰富的UCP1并具有与白色或经典棕色脂肪细胞不同的广泛基因程序,增加产热,从而达到减轻体重的效果(Wu et al., 2012)。所有脂肪细胞的一般分化过程是由PPAR γ 和CCAAT-增强剂结合蛋白(C/EBP)家族控制的,包括白色脂肪细胞的棕色化,它们也被部署在分化的米色脂肪细胞中激活某些产热选择性基因(Wang et al., 2019)。AMPK是PGC-1 α 和PPAR γ 的重要的上游调节器,它的磷酸化可激活PGC-1 α ,增强PPAR γ 的活性,从而促进白色脂肪组织的棕色化,并通过增强UCP1的表达增加产热(Khalafi et al., 2020)。PRDM16作为一个分子开关,它通过与几个转录因子,如C/EBP β 、PPAR γ 和PGC-1 α 的相互作用,实现白色脂肪组织棕色化

(Ohno et al., 2012)。PRDM16 与 C/EBP β 结合, 使 PPAR γ 、PGC- β 与 PGC-1 α 的表达量上调, 形成 PRDM16、PPAR γ 、C/EBP β 和 PGC-1 α 复合物, 促进棕色脂肪选择性基因 PPAR α 和 UCP1 等的转录表达, 诱导白色脂肪组织棕色化(李国生等, 2016)。C/EBP α 表达相对较晚, 是成脂终末分化阶段最重要的转录因子之一, 它和 PPAR γ 产生相互激活转录, 形成正反馈调节, 共同调控了大多数脂肪细胞分化相关基因的表达(宣杨, 2020)。总之, PPAR γ 、C/EBP α 、PRDM16 这三者在白色脂肪组织分化成米色脂肪的过程中扮演着非常重要的角色。在本实验中, 相较于 CK 组, MSG、HSG 两组的白色脂肪重量有下降趋势; 通过实时定量 PCR (real-time quantitative PCR, RT-qPCR) 检测 AMPK/PGC-1 α 信号通路、PPAR γ /C/EBP α /PRDM16 信号通路各相关基因在棕色脂肪、腹部脂肪和皮下脂肪中的表达情况, 与 CK 组相比, HSG 组中各基因的表达量均显著提高, 说明罗汉果甜苷可能通过降低白色脂肪占比和提高棕色脂肪占比, 并上调 AMPK/PGC-1 α 信号通路、C/EBP α /PPAR γ /PRDM16 信号通路中各基因的表达量, 从而促进白色脂肪向棕色脂肪的转化, 提高米色脂肪水平, 增加机体产热, 提高能量代谢水平以调控脂质代谢, 进而达到一定的减重、降血糖以及减弱脂肪肝的效果。

以上结果说明, 相较于 CK 组, LSG、MSG、HSG 三组的体重、肝重和血糖浓度均有下降趋势, HE 染色与油红 O 染色结果显示, 随着罗汉果甜苷浓度的增加, 脂肪沉积有明显的减少趋势; HSG 组的棕色脂肪、腹部脂肪和皮下脂肪中的 UCP1、PRDM16、PGC-1 α 、AMPK、PPAR γ 、C/EBP α 基因 mRNA 相对表达量均显著高于 CK 组的 ($P < 0.05$)。以上结果表明罗汉果甜苷显著影响小鼠的生长性能, 促进小鼠白色脂肪向棕色脂肪的转化, 提高脂质代谢。

3 材料与方法

3.1 实验材料

40 只初始体重约为 14 g 的 21 日龄雄性 KM 小鼠购于广州研成生物科技有限公司, 动物生产许可证编号为 SCXK(京)2019-0010。广西大学动物实验伦理审查委员会对所有动物实验流程和操作进行审

核, 批准编号为 Gxu-2019-184。罗汉果甜苷购自山东福旺嘉生物科技有限公司, 含量为 90% 以上; 血糖仪、血糖试纸均购于上药康德乐(上海)医药有限公司; 氯仿、异丙醇购于生工生物工程(上海)股份有限公司; Trizol 试剂、PrimeScriptTM RT Reagent Kit with gDNA Eraser 反转录试剂盒和 TB Green Premix Ex TaqTM II 定量试剂盒均购于 TaKaRa 公司。

3.2 实验设计

实验选取 40 只初始体重约为 14 g 的 21 日龄雄性 KM 小鼠。先将小鼠适应性饲养一周后随机分为 4 个处理组 ($n = 10$ 只/组), 并对各处理组进行相应的设计。对照组 (CK): 高脂饮食 (high-fat diet, HFD) + 生理盐水; 低浓度甜苷组 (LSG): HFD + 100 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ 罗汉果甜苷溶液; 中浓度甜苷组 (MSG): HFD + 300 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ 罗汉果甜苷溶液; 高浓度甜苷组 (HSG): HFD + 600 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ 罗汉果甜苷溶液。预实验 7 d, 正式实验 56 d。在小鼠饲喂过程中, 所有组别均无限制地供给高脂饲料, 每 3 d 称重一次。将罗汉果甜苷溶于生理盐水中, LSG、MSG、HSG 三组分别灌胃 100、300、600 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ 罗汉果甜苷溶液 0.3 mL, CK 组灌胃等体积的生理盐水, 实验结束后禁食 12 h, 逐只称重后测定血糖浓度(将血糖试纸的金属端插入血糖仪, 取小鼠尾部血液, 将血液滴至试纸上, 5 s 后读取血糖值)。以颈椎脱臼的方式处死各组小鼠, 分别采集棕色脂肪、皮下脂肪、腹部脂肪和肝脏等组织和脏器并称量。分别取小鼠棕色脂肪、皮下脂肪和肝组织做石蜡切片, 其中, 对小鼠棕色脂肪、皮下脂肪石蜡切片进行 HE 染色, 对肝组织石蜡切片进行油红 O 染色。

3.3 RT-qPCR 引物的设计与合成

参考 NCBI 中公布的小鼠 UCP1(索引号为 NM_009463.3)、PRDM16(索引号为 NM_001177995.1)、PGC-1 α (索引号为 NC_000071.7)、PPAR γ (索引号为 NM_001127330.3)、C/EBP α (索引号为 NM_001287514.1)、AMPK(索引号为 NM_153744.3), 运用 Oligo7.0 软件设计各基因的 RT-qPCR 引物, 以 GAPDH(索引号为 NM_001289726.2) 基因为内参基因, 引物由南宁捷尼斯生物科技有限公司合成, 引物序列信息如表 2 所示。

表 2 引物序列信息

Table 2 Primer sequence information

基因名称 Gene name	上游引物 Forward primer	下游引物 Reverse primer
<i>UCP1</i>	5'-CACGGGGACCTACAATGCCT-3'	5'-ACAGTAAATGGCAGGGGACG-3'
<i>PRDM16</i>	5'-CACGTCTACGGTGAACGGAA-3'	5'-ATGGGATCCATGAAGAACGGT-3'
<i>PGC-1α</i>	5'-TGACCACAAACGATGACCCTC-3'	5'-GACTGCGGTTGTGTATGGGAC-3'
<i>AMPK</i>	5'-CACCTGAAAGAGTACCGT-3'	5'-CATTTTGCCTTCCGTACACCT-3'
<i>PPARγ</i>	5'-CGGAAGCCCTTTGGTGACTT-3'	5'-CCTCGATGGGCTTCACGTTTC-3'
<i>C/EBPα</i>	5'-CCCTTGCTTTTTCACCTCC-3'	5'-GCTTTCTGCTCTGACTGGGG-3'
<i>GAPDH</i>	5'-AGGAGCGAGACCCCACTAACA-3'	5'-AGGGGGGCTAAGCAGTTGCT-3'

3.4 RNA 的提取及 cDNA 的合成

利用 Trizol 法提取小鼠棕色脂肪、皮下脂肪、腹部脂肪的总 RNA，测定 RNA 的纯度及浓度，当 OD_{260}/OD_{280} 值在 1.8~2.1 之间时，意味着 RNA 纯度较高。参考 PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser 反转录试剂盒说明书将 RNA 反转录成 cDNA。

3.5 基因相对表达量的测定

以棕色脂肪、皮下脂肪以及腹部脂肪组织的 cDNA 为模板，进行 RT-qPCR，以 *GAPDH* 为内参基因，扩增体系 (10 μ L) 为：TB Green II 酶 5 μ L，上、下游引物各 0.3 μ L，RNase Free H₂O 1.9 μ L，模板 2.5 μ L。扩增程序为：95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s，95 $^{\circ}$ C 变性 5 s，60 $^{\circ}$ C 退火 30 s，65 $^{\circ}$ C 延伸 5 s，45 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量。

3.6 数据的统计分析

采用 SPSS 24.0 软件的单因素方差分析 (one-way ANOVA) 对实验数据进行统计学分析，结果以“平均值 \pm 标准误”的方式表示； $P < 0.05$ 表示差异显著， $P > 0.05$ 表示差异不显著。

作者贡献

王永浪和韦义荣是本研究的执行者，完成数据分析和论文初稿的撰写。韦丽丽、何翠梅、徐慧凌和黄艳娜参与实验设计、实验操作和实验结果分析。蒋钦杨是本研究的构思者，负责实验设计与数据分析的指导及论文修改。全体作者都已阅读并同意最终的文本。

参考文献

戴胜, 汪惠丽, 2023. 天然甜味剂罗汉果甜苷的研究进展. 中

- 成药, 45(2): 503-509. [DAI S, WANG H L, 2023. Research progress of natural sweetener mogrosin. Chinese Traditional Patent Medicine, 45(2): 503-509.]
- 樊德慧, 金娟, 韩宇博, 等, 2020. 白色脂肪褐变影响因素的研究进展. 中国糖尿病杂志, 28(11): 874-877. [FAN D H, JIN J, HAN Y B, et al., 2020. Research progress on factors influencing browning of white fat. Chinese Journal of Diabetes, 28(11): 874-877.]
- 方勤圆, 付绍印, 王标, 等, 2023. 苏尼特羔羊褐色脂肪鉴定及特征研究. 畜牧兽医学报, 54(2): 563-571. [FANG Q Y, FU S Y, WANG B, et al., 2023. Identification and characterization of brown adipose tissue in sonid lambs. Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica, 54(2): 563-571.]
- 关璐, 刘川川, 张瑞霞, 2022. UCP1 调控棕色脂肪组织能量代谢及线粒体稳态. 生理科学进展, 53(5): 342-346. [GUAN L, LIU C C, ZHANG R X, 2022. UCP1 regulates energy metabolism and mitochondrial homeostasis in brown adipose tissue. Progress in Physiological Sciences, 53(5): 342-346.]
- 韩燕红, 张瑞霞, 2021. PGC-1 α 的生理特性及其影响因素. 医学信息, 34(2): 42-45. [HAN Y H, ZHANG R X, 2021. Physiological characteristics of PGC-1 α and its influencing factors. Journal of Medical Information, 34(2): 42-45.]
- 姬凯茜, 焦丹, 谢忠奎, 等, 2019. 棕色脂肪细胞特异基因 *PRDM16* 的研究进展与展望. 中国生物工程杂志, 39(4): 84-93. [JI K X, JIAO D, XIE Z K, et al., 2019. Advances and prospects of brown adipocyte-specific gene *PRDM16*. China Biotechnology, 39(4): 84-93.]
- 季学涛, 张许, 刘谨, 等, 2023. 脂肪组织中自噬影响肥胖发病机制的研究进展. 南京医科大学学报(自然科学版), 43(2): 275-282. [JI X T, ZHANG X, LIU J, et al., 2023. Research progress of autophagy in adipose tissue affecting the pathogenesis of obesity. Journal of Nanjing Medical University(Natural Sciences), 43(2): 275-282.]
- 蓝福生, 2020. 广西名贵良药佳果: 罗汉果. 广西农学报, 35(4): 88. [LAN F S, 2020. *Siraitia grosvenorii*, a precious

- medicine in Guangxi. *Journal of Guangxi Agriculture*, 35(4): 88.]
- 李国生, 刘栩晗, 李欣宇, 等, 2016. 黄连素对 2 型糖尿病小鼠内脏白色脂肪组织 PRDM16 信号通路及其调控基因 mRNA 表达的影响. *广东医学*, 37(5): 658-662. [LI G S, LIU X H, LI X Y, et al., 2016. Effect of berberine on PRDM16 signal pathway and mRNA expression of its regulatory gene in visceral white adipose tissue of type 2 diabetic hamsters. *Guangdong Medical Journal*, 37(5): 658-662.]
- 林致辉, 周庆莹, 王梦妮, 等, 2020. 小建中汤对运动性疲劳小鼠骨骼肌 AMPK/PGC1- α 信号通路的影响. *中国实验方剂学杂志*, 26(13): 73-78. [LIN Z H, ZHOU Q Y, WANG M N, et al., 2020. Effect of Xiao Jianzhongtang on AMPK/PGC1- α signal pathway in skeletal muscle of exercise fatigue mice. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 26(13): 73-78.]
- 刘灿, 马兰青, 孙媛霞, 2018. 罗汉果甜苷降糖机制及生物合成研究进展. *天然产物研究与开发*, 30(11): 2023-2031. [LIU C, MA L Q, SUN Y X, 2018. Hypoglycemic mechanisms and biosynthesis of mogrosides from *Siraitia grosvenorii* fruit: a review. *Natural Product Research and Development*, 30(11): 2023-2031.]
- 刘嘉昊, 王金兴, 胡俊杰, 等, 2022. 罗汉果甜苷 V 对持续光照小鼠脂肪积累的缓解作用. *南方农业学报*, 53(9): 2624-2633. [LIU J H, WANG J X, HU J J, et al., 2022. Relieving effect of mogroside V on fat accumulation in mice under continuous light irradiation. *Journal of Southern Agriculture*, 53(9): 2624-2633.]
- 刘暄, 2020. 罗汉果甜苷降血糖功能的研究, 硕士学位论文. 天津: 天津科技大学. [LIU X, 2020. Study on hypoglycemic function of mogroside, Thesis for M.S. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology.]
- 罗献梅, 陈代文, 2007. 棕色脂肪组织的生理功能及影响因素. *饲料工业*, 28(19): 22-26. [LUO X M, CHEN D W, 2007. Physiological function and affecting factors of brown adipose tissue. *Feed Industry*, 28(19): 22-26.]
- 宋晓婉, 2019. 罗汉果甜苷对高脂饮食诱导的肥胖小鼠的预防机制, 硕士学位论文. 天津: 天津商业大学. [SONG X W, 2019. Preventive mechanism of mogroside on obese mice induced by high-fat diet, Thesis for M.S. Tianjin: Tianjin University of Commerce.]
- 唐昉彤, 侯小涛, 杜正彩, 等, 2021. 罗汉果化学成分与药理作用的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)预测分析. *中草药*, 52(9): 2843-2850. [TANG Y T, HOU X T, DU Z C, et al., 2021. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Siraitiae fructus* and predictive analysis on quality markers. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 52(9): 2843-2850.]
- 王爰超, 吴华, 莫晨玲, 2020. 激活白色脂肪棕色化相关因子的研究进展. *河南医学研究*, 29(1): 190-192. [WANG A C, WU H, MO C L, 2020. Research progress on factors related to activation of white fat browning. *Henan Medical Research*, 29(1): 190-192.]
- 徐宜兰, 方启晨, 2017. 棕色脂肪和白色脂肪棕色化的调控研究新进展. *医学研究杂志*, 46(2): 3-6. [XU Y L, FANG Q C, 2017. New progress in the regulation of brown fat and white fat browning. *Journal of Medical Research*, 46(2): 3-6.]
- 宣杨, 2020. REG γ 通过 PKA-CREB 信号轴调控棕色和米色脂肪的功能及机制研究, 博士学位论文. 上海: 华东师范大学. [XUAN Y, 2020. A functional and mechanistic study of the regulation of brown and beige adipose tissue by REG γ through the PKA-CREB signaling axis, Dissertation for Ph.D. Shanghai: East China Normal University.]
- 喻日成, 范元硕, 罗建华, 2019. 盐酸小檗碱对高脂喂养大鼠棕色脂肪组织 *PGC-1 α* 及 *UCP-1* 基因表达的影响. *贵州医科大学学报*, 44(8): 908-911. [YU R C, FAN Y S, LUO J H, 2019. Effect of berberine hydrochloride on *PGC-1 α* /*UCP-1* gene expression in brown adipose tissue of rats fed with high-fat diet. *Journal of Guizhou Medical University*, 44(8): 908-911.]
- 章冬梅, 吕秀芹, 于贤, 等, 2022. 氧化苦参碱对高果糖喂养小鼠脂肪肝及肝氧化应激的干预作用. *中国老年学杂志*, 42(17): 4301-4303. [ZHANG D M, LÜ X Q, YU X, et al., 2022. Intervention of oxymatrine on fatty liver and oxidative stress in mice fed with high fructose. *Chinese Journal of Gerontology*, 42(17): 4301-4303.]
- 张小清, 许文华, 肖鑫, 等, 2021. 葛根苓连汤促进糖尿病大鼠棕色脂肪分化改善糖脂紊乱的分子机制. *中国中药杂志*, 46(17): 4462-4470. [ZHANG X Q, XU W H, XIAO X, et al., 2021. Molecular mechanism of Gegen Qinlian Decoction in promoting differentiation of brown adipose tissue to improve glucose and lipid metabolism disorders in diabetic rats. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 46(17): 4462-4470.]
- 张燕萍, 李柯晔, 王中亮, 等, 2020. 鸡肝细胞中 *C/EBP α* 基因的敲低及对糖脂代谢相关基因表达的影响. *中国家禽*, 42(4): 15-19. [ZHANG Y P, LI K Y, WANG Z L, et al., 2020. Knock-down of *C/EBP α* gene expression in chicken hepatocytes and its effect on the expression of lipid metabolism related genes. *China Poultry*, 42(4): 15-19.]
- 赵燕, 刘国艳, 史贤明, 2012. 罗汉果水提取物及其甜甙的体内抗氧化作用. *食品研究与开发*, 33(2): 174-176. [ZHAO Y, LIU G Y, SHI X M, 2012. Study on the antioxidative activity of the extract and mogroside of *Siraitia grosvenorii* in vivo. *Food Research and Development*, 33(2): 174-176.]
- HARMS M J, LIM H W, HO Y, et al., 2015. PRDM16 binds

- MED1 and controls chromatin architecture to determine a brown fat transcriptional program. *Genes Dev.*, 29(3): 298-307.
- HEINONEN S, JOKINEN R, RISSANEN A, et al., 2020. White adipose tissue mitochondrial metabolism in health and in obesity. *Obes. Rev.*, 21(2): e12958.
- HERZIG S, SHAW R J, 2018. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 19(2): 121-135.
- IIDA S, CHEN W, NAKADAI T, et al., 2015. PRDM16 enhances nuclear receptor-dependent transcription of the brown fat-specific Ucp1 gene through interactions with Mediator subunit MED1. *Genes Dev.*, 29(3): 308-321.
- KHALAFI M, MOHEBBI H, SYMONDS M E, et al., 2020. The impact of moderate-intensity continuous or high-intensity interval training on adipogenesis and browning of subcutaneous adipose tissue in obese male rats. *Nutrients*, 12(4): 925.
- LU H Y, WANG N, LI X A, et al., 2019. Identification of new potent human uncoupling protein 1 (UCP1) agonists using virtual screening and *in vitro* approaches. *Mol. Inform.*, 38(10): 1900030.
- LUO Z L, QIU F, ZHANG K L, et al., 2016. *In vitro* AMPK activating effect and *in vivo* pharmacokinetics of mogroside V, a cucurbitane-type triterpenoid from *Siraitia grosvenorii* fruits. *RSC Adv.*, 6(9): 7034-7041.
- MOISAN A, LEE Y K, ZHANG J D, et al., 2015. White-to-brown metabolic conversion of human adipocytes by JAK inhibition. *Nat. Cell Biol.*, 17(1): 57-67.
- OHNO H, SHINODA K, SPIEGELMAN B M, et al., 2012. PPAR γ agonists induce a white-to-brown fat conversion through stabilization of PRDM16 protein. *Cell Metab.*, 15(3): 395-404.
- QI X Y, CHEN W J, ZHANG L Q, et al., 2008. Mogrosides extract from *Siraitia grosvenori* scavenges free radicals *in vitro* and lowers oxidative stress, serum glucose, and lipid levels in alloxan-induced diabetic mice. *Nutr. Res.*, 28(4): 278-284.
- QIAN S W, TANG Y, TANG Q Q, 2021. Adipose tissue plasticity and the pleiotropic roles of BMP signaling. *J. Biol. Chem.*, 296: 100678.
- RAHMAN M S, KIM Y S, 2020. PINK1-PRKN mitophagy suppression by mangiferin promotes a brown-fat-phenotype via PKA-p38 MAPK signalling in murine C3H10T1/2 mesenchymal stem cells. *Metabolism*, 107: 154228.
- SEALE P, BJORK B, YANG W L, et al., 2008. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*, 454(7207): 961-967.
- SEALE P, KAJIMURA S, YANG W L, et al., 2007. Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16. *Cell Metab.*, 6(1): 38-54.
- WANG S Y, PAN M H, HUNG W L, et al., 2019. From white to beige adipocytes: therapeutic potential of dietary molecules against obesity and their molecular mechanisms. *Food Funct.*, 10(3): 1263-1279.
- WU J, BOSTRÖM P, SPARKS L M, et al., 2012. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell*, 150(2): 366-376.
- ZHANG X B, SONG Y F, DING Y P, et al., 2018. Effects of mogrosides on high-fat-diet-induced obesity and nonalcoholic fatty liver disease in mice. *Molecules*, 23(8): 1894.

(责任编辑 左波)
(责任副主编 韦祖樟)