

基于斑马鱼模型对 Betukladin 降血脂活性与机制分析

杜兴硕^a, 展文^a, 高松英^a, 孙长高^b, 徐明贤^b, 张思晨^b, 李洪亮^b, 夏青^a, 何秋霞^{a,b*}

(齐鲁工业大学(山东省科学院)^a.生物研究所 山东省人类疾病斑马鱼模型与药物筛选工程技术研究中心;
^b.高新技术产业(中试)基地,山东 济南 250103)

摘要: Betukladin (БЕТУКЛАДИН) 是一种由驯鹿地衣粉末和白桦树皮提取物组成的膳食补充剂,具有调节血糖、降血脂、抗炎及抗凝血等多种药理活性。本研究探讨 Betukladin 的降血脂活性及作用机制,旨在验证其活性,并为开发安全、经济的天然降脂药物提供科学依据。基于斑马鱼高脂模型,发现 Betukladin 可以显著改善斑马鱼高脂造模后的油红 O 染色 IOD 值、甘油三酯含量及总胆固醇含量升高的情况,表明了其具有降血脂的活性。通过网络药理学分析其可能通过脂质和动脉粥样硬化、PPAR 信号通路等多通路协同发挥降脂的作用。RT-qPCR 结果显示,其可以调控脂质代谢相关基因 *apoA1*、*LDLR* 和 *ANGPTL3*, 脂肪酸合成与氧化基因 *SREBF1*、*FASN*、*PPAR α* 、*cpt1a*, 胆固醇代谢基因 *CYP7A1*、*HMGCR*、*ABCG5*、*ABCG8*。

关键词: 高脂血症; Betukladin; 驯鹿地衣; 白桦树皮; 降血脂; 斑马鱼模型

中图分类号: R961 文献标志码: A 文章编号: 1002-4026(2026)01-0043-10

开放科学(资源服务)标志码(OSID):



Analysis of the lipid-lowering activity and mechanism of Betukladin based on a zebrafish model

DU Xingshuo^a, ZHAN Wen^a, GAO Songying^a, SUN Changgao^b, XU Mingxian^b,
ZHANG Sichen^b, LI Hongliang^b, XIA Qing^a, HE Qiuxia^{a,b*}

(a. Shandong Provincial Engineering Research Center for Zebrafish Models of Human Diseases and Drug Screening, Institute of Biology;
^b. High-Tech Industry (Pilot Test) Base, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China)

Abstract: Betukladin is a dietary supplement composed of reindeer lichen powder and birch bark extract, possessing various pharmacological activities such as blood glucose regulation, lipid lowering, anti-inflammatory effects, and anticoagulation. This study investigates the lipid-lowering activity and underlying mechanism of Betukladin, aiming to validate its efficacy and provide a scientific basis for developing safe and economical natural lipid-lowering drugs. Using a zebrafish hyperlipidemia model, we found that Betukladin significantly improved the elevated Oil Red O staining integrated

收稿日期: 2025-08-20 修回日期: 2025-09-24

基金项目: 山东省自然科学基金创新发展联合基金(ZR202306200045); 中央引导地方科技发展资金项目(YDZX2022169)

作者简介: 杜兴硕(2001—), 硕士研究生, 研究方向为药物筛选。E-mail: xingshuo2001@163.com

* 通信作者, 何秋霞, 研究员, 研究方向为药物筛选。E-mail: heqx@sdas.org

optical density values, triglyceride levels, and total cholesterol levels induced by high-fat modeling, indicating its lipid-lowering activity. Network pharmacology analysis suggested that Betukladin may exert its lipid-lowering effects through multiple coordinated pathways, including lipid and atherosclerosis pathways and the PPAR signaling pathway. RT-qPCR results showed that it can regulate lipid metabolism-related genes (*apoA1*, *LDLR*, and *ANGPTL3*), fatty acid synthesis and oxidation genes (*SREBF1*, *FASN*, *PPAR α* , and *cpt1a*), and cholesterol metabolism-related genes (*CYP7A1*, *HMGCR*, *ABCG5*, and *ABCG8*).

Key words : hyperlipidemia; Betukladin; reindeer lichen; birch bark; lipid lowering; zebrafish model

高脂血症(hyperlipidemia)是一种以血浆中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)升高或高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)降低为特征的代谢紊乱疾病。高脂血症是全球心血管疾病发病和死亡的首要风险因素之一^[1]。据研究,全球超过80%的人口面临心血管问题,而高脂血症是动脉粥样硬化、冠心病、脑卒中的核心诱因。在中国,高脂血症导致约1/3的脑卒中病例,且因症状隐匿,早期干预不足,伴随老龄化、高脂饮食和久坐生活方式,其发病率呈显著上升趋势^[2]。现代研究表明,高脂血症可分为由基因突变导致脂蛋白代谢异常的原发性高脂血症,和由疾病或者环境诱导的继发性高脂血症,实际上高脂血症的发生通常是遗传易感背景与不良生活方式以及其他疾病相互作用的结果^[3]。在中医理论中,将血脂归为“膏脂”范畴,与津液同源。正常情况下,膏脂依赖脏腑运化疏布周身,发挥“注骨、益髓、泽肤”之效。当脏腑功能失调、气血津液代谢失常时,膏脂不散,聚为“脂浊”,沉积脉道则成痰瘀,阻塞脉络^[4]。相比西药如他汀类药物可能引发肝损伤、肌肉疼痛等不良反应,中草药多为天然植物药,副作用较小,对肝肾功能无显著损害,因此对降血脂相关中草药与方剂的研究具有重要意义。

Betukladin(БЕТУКЛАДИН)是一款由俄罗斯国家科学院生物问题研究所雅库特分所生产的膳食补充剂,其主要组成成分为驯鹿地衣粉末和白桦树皮提取物,具有调节血糖、降血脂、抗炎、抗病毒及抗凝血等功效。驯鹿地衣,学名鹿蕊(*Cladonia rangiferina*),是一种浅色灌木状的石蕊科地衣,由真菌与藻类共生形成的独特生物体,是一种极耐寒的生物^[5]。物质组成分析显示其主要含有地衣- β -寡糖、缩酚酸、缩酚酸环醚、松萝酸、多糖、氨基酸等生物活性化合物,现代药理学研究显示其具有抗菌消炎、免疫调节、抗氧化与抗凋亡、抗肿瘤等药物活性^[6]。白桦树皮提取物是从白桦树的树皮中提取的生物活性物质,具有广泛的药理作用。白桦树皮提取物富含三萜类化合物、烷醇、羊毛甾醇、多糖及抗氧化剂等多种生物活性化合物,具有促进伤口愈合与皮肤修复、抑制血管生成与抗肿瘤、抗菌与免疫调节、抗氧化抗炎等药物活性^[7],白桦树皮中的桦木酸在高脂饮食诱导的大鼠模型中表现出与他汀类降脂药物相似的降血脂活性^[8]。

Betukladin作为基于白桦树和驯鹿地衣的生物制剂,在肝炎、结核和COVID-19中展现出显著疗效,尤其在耐药性感染和免疫调节领域具有重要应用潜力^[9]。该膳食补充剂的两种主要成分可能具有协同降血脂的潜力,但其降血脂机制还不清楚。在现有研究基础上,开展基于斑马鱼模型的降血脂活性与机制分析具有研究意义。该研究不仅可科学验证该膳食补充剂的降血脂作用,更对应对全球心血管疾病负担、开发安全经济的天然降脂药物具有重要意义。

1 材料与方法:

1.1 实验动物:

本实验中所使用到的野生型AB斑马鱼由山东省科学院生物研究所药物筛选实验室所提供。成年斑马鱼按照 *The zebrafish book: a guide for the laboratory use of zebrafish Danio (Brachydanio) rerio* 的标准进行饲养^[10]。

1.2 实验试剂

Betukladin(БЕТУКЛАДИН)(SGR编号:RU.77.99.11.003.R.003857.10.21 от 27.10.2021г.,俄罗斯国家科学院生物问题研究所雅库特分所);阿托伐他汀钙(货号:C15914532,上海麦克林生化科技有限公司);蛋

黄粉(货号:24231223001,北京 Solarbio 科技有限公司);油红 O(货号:B01E10107,北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司);甘油三酯(TG)检测试剂盒(货号:A110-1-1,南京建成生物工程所);总胆固醇(TC)含量检测试剂盒(货号:BC1980,北京 Solarbio 科技有限公司);FastPure Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit-BOX 2(货号:RC101-01,南京诺唯赞生物科技股份有限公司);HiScript III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)(货号:R323-01,南京诺唯赞生物科技股份有限公司);ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(货号:Q711-03,南京诺唯赞生物科技股份有限公司);引物(合成厂家:上海生工生物工程股份有限公司)。

1.3 实验仪器

光照培养箱(HPG280-BX,东联电子技术有限公司);低温离心机(Centrifuge 5804R,Eppendorf 公司);小型离心机(G508010,上海生工有限公司);涡旋仪(Vortex-genie2,其林贝尔仪器制造有限公司);超声清洗机(SB-5200DT,新芝生物科技股份有限公司);电子天平(IE204E,梅特勒-托利多仪器有限公司);体视显微镜(COIC-ZSA302,日本 Olympus 公司);酶标仪(BMGLABTECH,德国 SPECTROstar Nano 公司);梯队 PCR 仪(BIO-RAD C100,Thermal cycler 公司);荧光定量 PCR 仪(LightCycler 96,瑞士 Roche 公司)。

1.4 Betukladin 安全性及活性评价

1.4.1 Betukladin 安全性评价

将受精后 7 d (day past fertilization, dpf) 发育正常的斑马鱼分成两组,置于 12 孔板中,一组为空白对照组,置于 1×E3 养鱼水(5 mmol/L NaCl、0.17 mmol/L KCl、0.44 mmol/L CaCl₂ 和 0.33 mmol/L MgSO₄ · 7H₂O) 中;一组为 Betukladin 实验组,分别给予不同质量浓度 Betukladin 溶液(10、20、30、40、80、160 μg/mL),每孔有 10 条,每组建立 3 个重复孔,置于光照培养箱中培养 24 h。待处理完成后,统计并记录各组斑马鱼死亡的情况。最后,使用软件 GraphPad Prism 8.3 进行分析,得到 Betukladin 的半数致死浓度(LC₅₀),确定 Betukladin 后期的工作液浓度使用范围。

1.4.2 Betukladin 对斑马鱼血脂的影响

将 5 dpf 发育正常的斑马鱼分成两组,一组为空白对照组,培养 48 h 后,将发育正常的斑马鱼置于 12 孔板中,每孔有 10 条,每组建立 3 个重复孔;一组为高脂造模组,置于质量浓度为 0.01 g/L 蛋黄液(蛋黄粉,1×E3 养鱼水),培养 48 h 后,用养鱼水清洗两到三次,以清除残留蛋黄粉,将发育正常的斑马鱼置于 12 孔板中,每孔有 10 条,每组建立 3 个重复孔。根据上述实验结果,确定 Betukladin 实验质量浓度,实验分为空白组、高脂造模组、阿托伐他汀钙组(10 μmol/L)、Betukladin 实验组(10、15、20 μg/mL),然后置于光照培养箱中培养 24 h。待处理完成后,取出孔板并吸出孔内溶液,使用 1×E3 养鱼水清洗 3 次后,利用油红 O 工作液对斑马鱼血脂进行染色。随机选择每组斑马鱼 15 条,置于显微镜下观察并采集图像,整鱼放大 32 倍,局部躯干部放大 100 倍,以斑马鱼肠道末端为左侧边界,用于比较的照片在相同的参数下拍摄。最后使用 Image-pro plus 5.1 测定斑马鱼血管内累计光密度(integrated optical density, IOD),以 IOD 值作为油红 O 染色的相对定量指标。通过 IOD 值计算降脂率:

$$\text{降脂率} = [(I_{\text{高脂造模组}} - I_{\text{实验组}}) / I_{\text{高脂造模组}}] \times 100\%, \quad (1)$$

其中, I 表示斑马鱼血管内累计光密度 IOD 值。

1.4.3 甘油三酯和总胆固醇质量摩尔浓度水平检测

选用甘油三酯检测试剂盒检测斑马鱼体内甘油三酯的质量摩尔浓度。每组收集 30 条实验后的斑马鱼,称取质量,按照说明书中 1:9 的比例加入无水乙醇,匀浆,获取上清液。此实验完全按照试剂盒说明书进行操作。使用酶标仪,在 500 nm 波长测量出各个孔的吸光度值。按照公式(2)计算甘油三酯质量摩尔浓度(mmol/g):

$$\text{甘油三酯质量摩尔浓度} = \frac{A_{\text{样本孔}} - A_{\text{空白孔}}}{A_{\text{标准孔}} - A_{\text{空白孔}}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{W}{V_{\text{提取液}}}, \quad (2)$$

其中: A —吸光度值; $C_{\text{标准}}$ —标准品浓度,2.26 mmol/L; W —组织质量(g); $V_{\text{提取液}}$ —加入的提取液(乙醇)的总体积,L。

选用总胆固醇含量检测试剂盒检测斑马鱼体内总胆固醇的含量。每组收集 30 条实验后的斑马鱼幼鱼,称取质量,按照说明书中 1:5 的比例加入异丙醇,匀浆,获取上清液。此实验完全按照试剂盒说明书进行操作。使用酶标仪,在 500 nm 波长测量出各个孔的吸光度值。采用提取液将标准品配制为二倍梯度浓度系列标准管,测定各浓度标准管及空白管的吸光度,以标准管浓度($x, \mu\text{mol/mL}$)为横坐标、吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ ($y, \Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$)为纵坐标,建立标准曲线($y = 0.1189x - 0.0018$)。测定各组斑马鱼的测定管吸光度,将吸光度 $\Delta A_{\text{测定}}$ ($y, \Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$)代入标准曲线公式计算样本浓度($x, \mu\text{mol/mL}$),最终利用公式(3)测出每一组斑马鱼总胆固醇的质量摩尔浓度:

$$\text{总胆固醇质量摩尔浓度} = x \times V_{\text{提取液}} \div W, \quad (3)$$

其中, x : 样本浓度, $\mu\text{mol/mL}$; $V_{\text{提取液}}$: 加入样品的提取液体积, 0.072 mL; W : 样本质量, g。

1.5 基于网络药理学技术揭示 Betukladin 降血脂的活性成分和作用机制

1.5.1 Betukladin 有效化学成分及作用靶点的获取

利用本草组鉴平台(<http://herb.ac.cn/>, HERB)及文献检索 Betukladin 中各药材(驯鹿地衣、白桦树皮)的化学成分,并通过 Pubchem 数据库检索出活性成分对应的 Smiles 号和化学结构式;导入 Swiss Target Prediction 和 PharmMapper 数据库,获取对应成分的作用靶点;利用 Uniport 数据库将靶点转化成人源物种标准基因名称(Gene symbol),去重得到 Betukladin 成分的作用靶点。

1.5.2 高脂血症作用靶点的收集

以“hyperlipidemia”为关键词分别在 GeneCards 数据库、OMIM 数据库中进行检索,将结果集合去重并设置 Relevance score ≥ 1 ,获得 968 个疾病相关靶点。

1.5.3 Betukladin 潜在基因作用靶点的筛选

将 Betukladin 活性成分作用靶点和高脂血症作用靶点共同导入 Venn 在线平台绘制维恩图,交集即为 Betukladin 和高脂血症的共同靶点,即 Betukladin 血脂的潜在基因作用靶点。

1.5.4 构建蛋白之间相互作用网络图

在 STRING 数据库中输入获取的交集靶点基因,物种设定为“Home sapiens”,最小相互作用阈值调整为 0.4,构建蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络。将 PPI 网络导入 Cytoscape 3.9.1 软件中,对蛋白靶点网络进行拓扑参数分析,计算节点(Degree)度值,筛选出核心靶点。

1.5.5 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

在 Metascape 数据库中输入核心靶点,物种设置为“Home sapiens”,对其分别进行生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞成分(cellular component, CC)的 GO(gene ontology)富集分析和 KEGG(Kyoto encyclopedia of genes and genomes)生物通路富集分析。

1.6 RNA 提取和 RT-qPCR 分析

使用总 RNA 分离试剂盒从 30 条斑马鱼中提取总 RNA,使用 HiScript II. Reverse Transcriptase Kit 将 mRNA 转化为单链 cDNA,使用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 两步定量 RT-qPCR 技术进行 RT-qPCR。 β -actin 用作内部参考基因。用 LightCycle 96 SW1.1 软件测定每组的 CT 值。 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法用于确定相对基因表达。

1.7 统计学分析

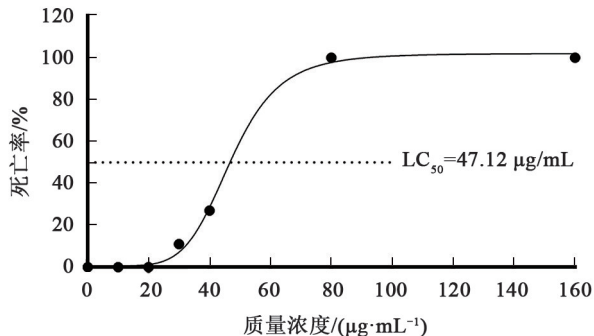
本研究运用统计分析软件 GraphPad Prism 8.3.0 展开统计学分析,用 ($\text{mean} \pm \text{SEM}$)表示实验数据,各组间显著性差异分析均采用单因素方差分析(one-way anova)进行。

2 实验结果:

2.1 Betukladin 安全性及活性评价

2.1.1 Betukladin 安全性评价

通过观察并统计斑马鱼的死亡情况,结果显示质量浓度为 80、160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的斑马鱼全部死亡,经计算分析,如图 1 所示, LC_{50} 为 47.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。根据所得结果,确定安全质量浓度范围为 0~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。



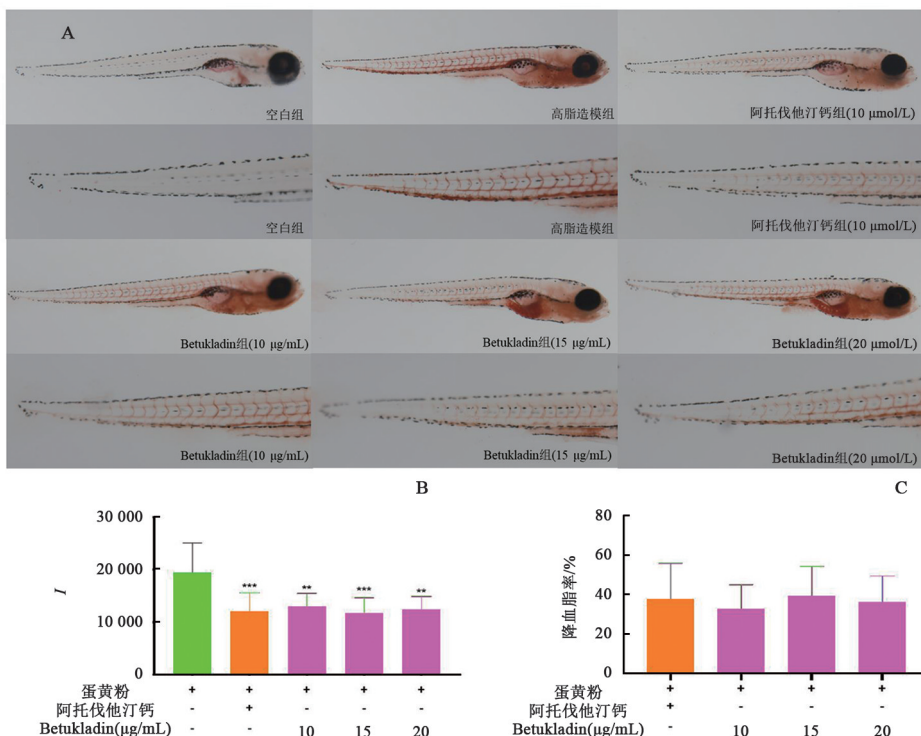
注:半数致死率 LC_{50} 为 47.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$, $n=30$ 。

图 1 Betukladin 安全剂量确定

Fig.1 Determination of the safe dosage of Betukladin

2.1.2 Betukladin 对斑马鱼血脂的影响

根据油红 O 染色结果分析,空白组斑马鱼尾部未见明显血脂沉积区域,如图 2A 所示,故未纳入统计。高脂造模组斑马鱼尾部油红 O 染色面积显著增加,IOD 值明显升高,如图 2B 所示,证实蛋黄粉成功诱导了斑马鱼血脂升高。阳性对照阿托伐他汀钙组染色面积和 IOD 值的显著降低,与其已知的降血脂作用一致。经 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Betukladin 处理的斑马鱼 IOD 值也呈现明显下降趋势,这表明 Betukladin 具有一定的降血脂活性,图 2C 为阿托伐他汀钙与 Betukladin 的降血脂率。这些结果共同证实了实验模型的可靠性,并验证了 Betukladin 的活性作用。



注:A. 油红 O 染色后,空白组,阿托伐他汀钙组, Betukladin 组对斑马鱼血脂影响的表征图,整鱼放大 32 倍,局部躯干部放大 100 倍;B. 斑马鱼尾部血脂 IOD 的统计图;C. 阿托伐他汀钙组, Betukladin 的降血脂率的统计图。*** $P < 0.0001$,

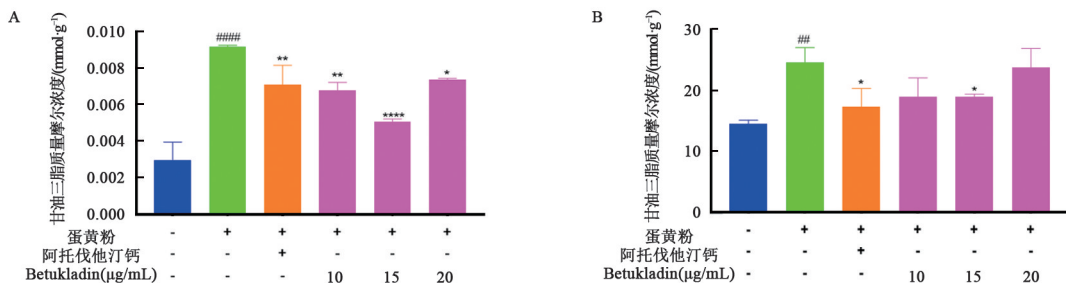
** $P < 0.05$ vs. Model,代表有显著性差异。

图 2 Betukladin 对斑马鱼脂质的影响

Fig.2 Effects of Betukladin on zebrafish lipids

2.1.3 甘油三酯和总胆固醇水平检测

如图3所示,与空白组相比,当经过蛋黄粉饲养处理后,斑马鱼体内甘油三酯和总胆固醇质量摩尔浓度明显增高,说明斑马鱼体内血脂升高。经阿托伐他汀钙处理后斑马鱼体内甘油三酯和总胆固醇质量摩尔浓度显著降低,与其已知的降血脂作用一致。当经过 Betukladin 处理后,且质量浓度为 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,斑马鱼体内甘油三酯和总胆固醇质量摩尔浓度较高脂造模组明显降低,具有显著性差异。



注:#### $P < 0.0001$, ## $P < 0.05$ vs. Control, **** $P < 0.0001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs. Model, 代表有显著性差异。

图3 甘油三酯和总胆固醇质量摩尔浓度统计图

Fig.3 Statistical chart of triglyceride and total cholesterol levels

2.2 基于网络药理学技术揭示 Betukladin 降血脂的活性成分和作用机制

2.2.1 Betukladin 成分及靶点获取结果

在 HERB 平台及文献检索中,筛选出成分共 61 个,其中驯鹿地衣 24 个,白桦树皮 37 个。在 Swiss Target Prediction 数据库中获得成分的靶点,剔除无作用靶点后共 689 个。

2.2.2 高脂血症靶点的获取结果

以“hyperlipidemia”为关键词在 GeneCards 数据库、OMIM 数据库中进行检索,将 2 个数据库查询到的相关疾病靶点结合,去重,最终获得 892 个靶点。

2.2.3 Betukladin 潜在基因作用靶点的获取结果

将 Betukladin 成分和高脂血症的靶点收集并作维恩图后获得交集靶点 122 个,如图 4 所示。

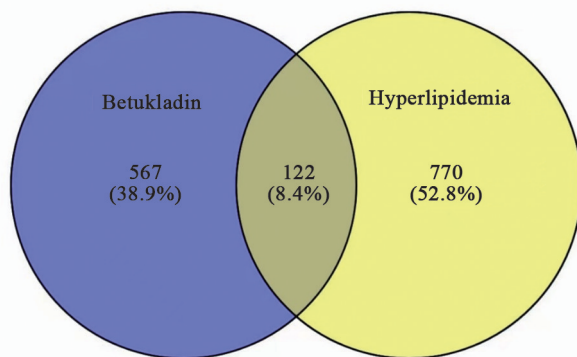


图4 Betukladin 成分和高脂血症的靶点维恩图

Fig.4 Venn diagram of Betukladin components and hyperlipidemia targets

2.2.4 Betukladin 降血脂核心靶点筛选结果

在 STRING 数据库中将获取的共有靶点导入构建 PPI 网络,之后将靶点文件导入 Cytoscape 3.9.1 软件后,对 PPI 网络进行拓扑分析。Degree 数值代表某一节点与其他节点相互作用的个数,其数值越大,代表该节点在生物学进程的作用越重要。设置 Degree ≥ 20 ,得到核心靶点共 47 个,如图 5 为核心靶点网络图。其中 Degree 值排名前十的核心靶点为 ALB、TNF、IL6、PPARG、PPARA、MMP9、ESR1、EGFR、ACE、CXCL8。

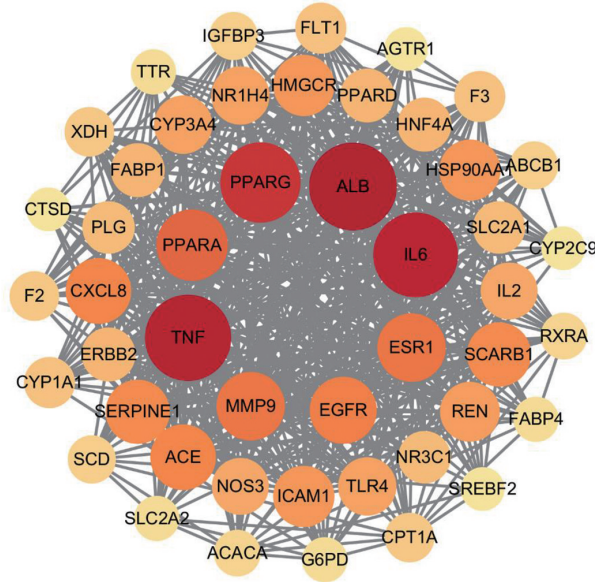


图 5 47 个共有靶点 PPI 网络图

Fig.5 PPI network of the 47 common targets

2.2.5 GO 功能富集和 KEGG 通路富集结果分析

将核心靶点导入 Metascape 数据库中,物种设置为人源,进行 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析。其中 GO 分析得到生物过程(biological process, BP)共 595 条,分子功能(molecular function, MF)共 67 条,细胞组成(cell component, CC)共 38 条;将结果根据 *P* 升序排列,分别将前 10 条目进行可视化分析,如图 6。

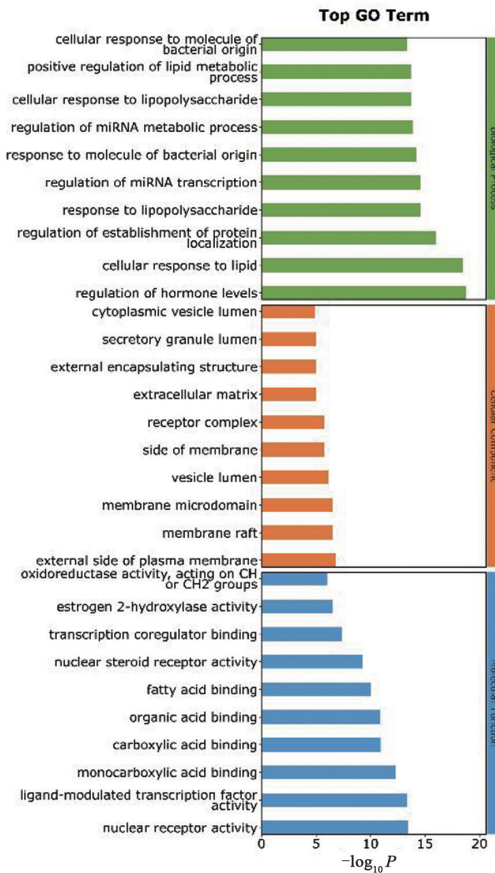


图 6 Betukladin 降血脂 GO 功能富集分析图

Fig.6 GO functional enrichment analysis of the lipid-lowering effects of Betukladin

KEGG 通路分析共获得 82 条通路信号,其中可以看出 Betukladin 降血脂参与相互的信号通路主要有脂质和动脉粥样硬化、癌症通路、PPAR 信号通路、酒精性肝病、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路等,选取了与高脂血症相关的前 20 条信号通路,如图 7,利用欧易云作图平台进行绘图,最后选取了前 20 条信号通路信息。

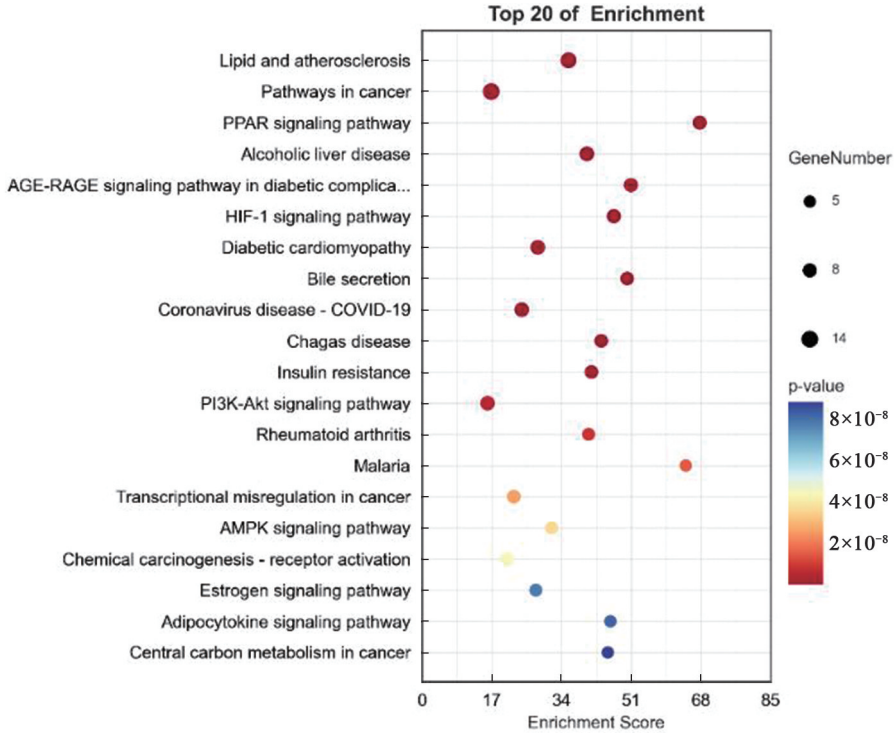
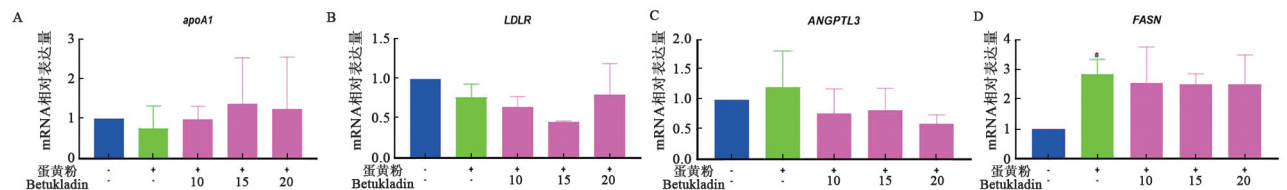


图 7 Betukladin 降血脂通路的 KEGG 气泡图

Fig.7 KEGG bubble chart of Betukladin's lipid-lowering pathways

2.3 Betukladin 对斑马鱼基因表达的影响

在血脂形成的过程中,脂质代谢和胆固醇代谢反应最为关键。为了探究化合物组合是如何抑制血脂形成中的分子机制,我们利用 RT-qPCR 技术检测了关于脂质代谢和胆固醇代谢的关键因子的基因表达水平的变化,如图 8 所示,与空白对照组相比,高脂造模组的 *FASN*、*cpt1a*、*CYP7A1*、*HMGCR*、*ABCG8* 和 *Nrf2* 基因的表达水平显著上调,经过 Betukladin 处理后 *cpt1a*、*CYP7A1*、*HMGCR* 和 *Nrf2* 基因其表达量都有显著下调趋势,*FASN* 和 *ABCG8* 基因的表达水平呈现下降趋势。与空白对照组相比,高脂造模组的 *ANGPTL3*、*PPARα*、*SREBF1* 和 *ABCG5* 基因的表达水平上调趋势,经过 Betukladin 处理后这些基因其表达量都有下调趋势。与空白对照组相比,高脂造模组的 *apoA1* 和 *LDLR* 基因表达水平有下调趋势,经过 Betukladin 处理后 *apoA1* 和 *LDLR* 基因其表达量都有上调趋势。在 Betukladin 质量浓度达到 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,*PPARα*、*cpt1a*、*CYP7A1*、*HMGCR* 和 *Nrf2* 基因相对高脂造模组的表达量有显著性。综上 Betukladin 可以调控高脂诱导的脂质代谢和胆固醇代谢相关基因的表达异常。



注:#### $P < 0.0001$, ### $P < 0.01$, # $P < 0.05$ vs. Control, **** $P < 0.0001$, *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs. Model,代表有显著性差异。

图 8 Betukladin 对脂代谢和胆固醇代谢相关基因的影响

Fig.8 Effects of Betukladin on genes related to lipid metabolism and cholesterol metabolism

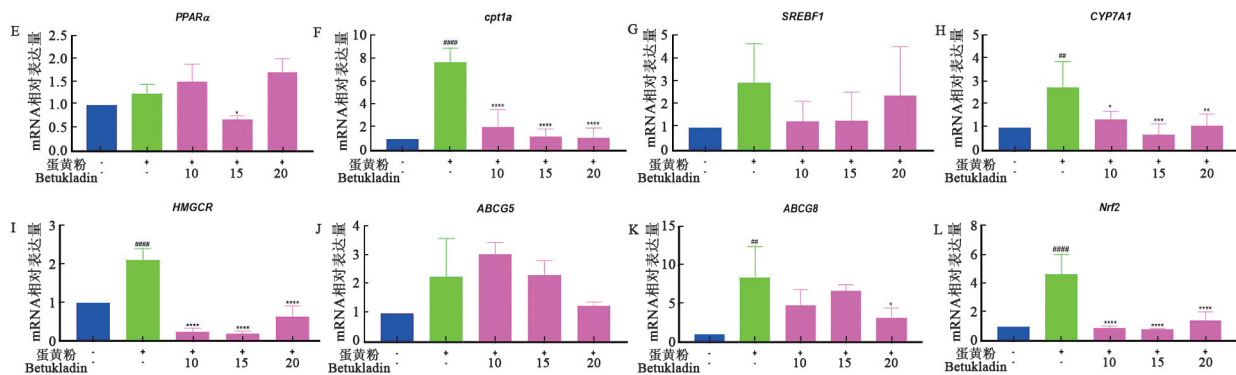


图 8(续)

3 讨论

高脂血症是心血管疾病的重要风险因素,其发病机制涉及脂质合成、分解、转运及氧化的复杂调控网络。近年来,天然药物因其多靶点、低毒性的特点,成为降脂药物研发的重要方向。

apoA1 (载脂蛋白 A-I) 基因编码一种关键的血浆载脂蛋白,主要负责高密度脂蛋白(HDL)的组装和功能维持。作为 HDL 的主要结构蛋白,*apoA1* 通过介导胆固醇逆向转运(RCT)清除外周组织中的胆固醇,运输至肝脏代谢,从而发挥抗动脉粥样硬化的作用^[11]。*LDLR* (低密度脂蛋白受体)是调控血浆胆固醇水平的关键基因,其功能机制是 *LDLR* 通过结合低密度脂蛋白(LDL)和中间密度脂蛋白(IDL),介导其内吞和降解,从而清除血液中的胆固醇^[12]。*ANGPTL3* (血管生成素样蛋白 3) 基因是一种编码血管生成素样蛋白 3 的基因,该基因通过调控脂质代谢在心血管疾病中发挥重要作用。其通过抑制脂蛋白脂酶(LPL)和内皮脂酶(EL)的活性,减少甘油三酯的分解,从而升高血浆甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平^[13]。*FASN* (脂肪酸合成酶)和 *SREBF1* (固醇调节元件结合蛋白 1) 是通过调控脂肪酸合成和代谢的关键酶,在脂质代谢中起核心作用^[14]。*PPARα* (过氧化物酶体增殖物激活受体 α) 属于核激素受体超家族,是一种配体激活的转录因子。其主要调控脂质代谢、脂肪酸氧化、能量稳态和炎症反应等生理过程^[15]。*cpt1a* (肉碱棕榈酰转移酶 1A) 是线粒体外膜的关键酶,脂质代谢的核心调控基因,在高脂模型中通常表达上调以增强脂肪酸氧化能力,参与 *PPARα*、*AMPK*、胰高血糖素等信号通路,调控脂肪酸氧化和能量稳态^[16]。*HMGCR* (3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶) 基因编码胆固醇生物合成途径中的限速酶,负责调控胆固醇合成^[17]。*CYP7A1* (胆固醇 7α-羟化酶) 基因编码细胞色素 P450 家族中的限速酶,负责催化胆固醇转化为 7α-羟基胆固醇,通过促进胆固醇向胆汁酸的转化维持体内胆固醇稳态,影响脂代谢、胆汁酸合成及类固醇代谢^[18]。*ABCG5* 基因属于 ATP 结合盒(ABC)转运蛋白超家族的 White 亚家族,与 *ABCG8* 基因共同作用,在胆固醇代谢中起关键作用。*ABCG5* 基因编码的蛋白质与 *ABCG8* 形成异源二聚体,主要在小肠和肝脏中高表达,通过限制肠道胆固醇吸收并促进胆汁中甾醇排泄来维持胆固醇稳态^[19]。*Nrf2* (核因子 E2 相关因子 2) 是一种调控氧化应激防御和代谢平衡的转录因子^[20]。高脂组 *Nrf2* 表达上调,膳食补充剂干预后其表达下调,提示 Betukladin 可能通过减少氧化应激和炎症反应,改善脂质代谢紊乱。综合实验结果,该 Betukladin 可能通过促进胆固醇逆向转运、抑制胆固醇合成、增强脂质分解、改善胆汁酸代、抗氧化与抗炎作用发挥降血脂的作用。

本研究基于斑马鱼高脂模型,以油红 O 染色 IOD 值、甘油三酯含量,总胆固醇含量为指标,评价了一种 Betukladin 的活性作用,并探讨了 Betukladin 对脂代谢关键基因的调控作用,分析了其可能的作用机制,揭示了其通过脂质合成、分解及氧化等多通路协同降脂的机制。Betukladin 多靶点特性与现有药物形成互补,为开发新型天然降脂制剂提供了理论依据。未来研究应聚焦于活性成分鉴定及作用通路的精准解析,以推动其临床转化。

参考文献:

- [1] ARVANITIS M, LOWENSTEIN C J. Dyslipidemia[J]. *Annals of Internal Medicine*, 2023, 176(6): ITC81-ITC96. DOI:10.7326/aitc202306200.
- [2] 国家心血管病中心, 中国心血管健康与疾病报告编写组, 胡盛寿. 中国心血管健康与疾病报告 2023 概要[J]. *中国循环杂志*, 2024, 39(7): 625-660. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2024.07.001.
- [3] FALUK M, WARDHERE A, MOHAMOUD A, et al. Evolution of LDL-C lowering medications and their cardiovascular benefits: Past, present, and future[J]. *Current Problems in Cardiology*, 2024, 49(7): 102637. DOI:10.1016/j.cpcardiol.2024.102637.
- [4] 董娜. 立脂消降脂胶囊对高血脂大鼠降脂作用的实验研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010.
- [5] 张禾垟, 郑军军, 闵祥玉, 等. 鹿蕊的营养成分含量测定[J/OL]. *特产研究*, 2023; 1-3. [2025-08-10]. <https://link.cnki.net/doi/10.16720/j.cnki.tcyj.2023.201>.
- [6] KOSANIĆ M. Extracts of five *Cladonia* lichens as sources of biologically active compounds[J]. *Farmacia*, 2018, 66(4): 644-651. DOI:10.31925/farmacia.2018.4.13.
- [7] 薛鑫. 白桦树皮化学成分及其抗炎活性研究[D]. 延吉: 延边大学, 2021. DOI:10.27439/d.cnki.gybd.2021.001349.
- [8] XIE R, ZHANG H, WANG X Z, et al. The protective effect of betulinic acid (BA) diabetic nephropathy on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats[J]. *Food & Function*, 2017, 8(1): 299-306. DOI:10.1039/c6fo01601d.
- [9] КЕРШЕНГОЛЬЦ Б М, ШАШУРИН М М, СЛЕПЦОВА С С, et al. Биопрепарат из природного северного биосырья и возможности его использования при профилактике, лечении и на этапе ремиссии после перенесенных бактериальных и вирусных инфекций, включая COVID-19[J]. *ПРИРОДНЫЕ РЕСУРСЫ АРКТИКИ И СУБАРКТИКИ*, 2021, 26(3): 120-135.
- [10] WESTERFIELD M M. The zebrafish book: a guide for the laboratory use of zebrafish *Danio (Brachydanio) rerio*[M]. Eugene, OR: Institute of Neuroscience, 1994.
- [11] 马百坤, 郭利利, 方蓉, 等. 人载脂蛋白 A I 基因的克隆表达及功能[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2005, 21(2): 272-276. DOI:10.13865/j.cnki.cjbmb.2005.02.027.
- [12] GO G W, MANI A. Low-density lipoprotein receptor (LDLR) family orchestrates cholesterol homeostasis[J]. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 2012, 85(1): 19-28.
- [13] LUO F, DAS A, KHETARPAL S A, et al. ANGPTL3 inhibition, dyslipidemia, and cardiovascular diseases[J]. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 2024, 34(4): 215-222. DOI:10.1016/j.tcm.2023.01.008.
- [14] SONG Z Y, XIAOLI A M, YANG F J. Regulation and metabolic significance of *de novo* lipogenesis in adipose tissues[J]. *Nutrients*, 2018, 10(10): 1383. DOI:10.3390/nu10101383.
- [15] LALLOYER F, WOUTERS K, BARON M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha gene level differently affects lipid metabolism and inflammation in apolipoprotein E2 knock-in mice[J]. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2011, 31(7): 1573-1579. DOI:10.1161/ATVBAHA.110.220525.
- [16] SCHLAEPFER I R, JOSHI M. CPT1A-mediated fat oxidation, mechanisms, and therapeutic potential[J]. *Endocrinology*, 2020, 161(2): bqz046. DOI:10.1210/endo/bqz046.
- [17] LUO J, YANG H Y, SONG B L. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, 21(4): 225-245. DOI:10.1038/s41580-019-0190-7.
- [18] VARGAS-ALARCÓN G, PÉREZ-MÉNDEZ Ó, POSADAS-SÁNCHEZ R, et al. Associations of the CYP7A1 gene polymorphisms located in the promoter and enhancer regions with the risk of acute coronary syndrome, plasma cholesterol, and the incidence of diabetes[J]. *Biomedicines*, 2024, 12(3): 617. DOI:10.3390/biomedicines12030617.
- [19] FANG C Q, PAN J H, QU N, et al. The AMPK pathway in fatty liver disease[J]. *Frontiers in Physiology*, 2022, 13: 970292. DOI:10.3389/fphys.2022.970292.
- [20] HE L, CHEN Q H, WANG L, et al. Activation of Nrf2 inhibits atherosclerosis in *ApoE^{-/-}* mice through suppressing endothelial cell inflammation and lipid peroxidation[J]. *Redox Biology*, 2024, 74: 103229. DOI:10.1016/j.redox.2024.103229.