

- [17] Bers D M. Cardiac sarcoplasmic reticulum calcium leak: basis and roles in cardiac dysfunction[J]. *Annu Rev Physiol*, 2014, 76: 107-127.
- [18] Sohns C, Marrouche N F. Atrial fibrillation and cardiac fibrosis[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(10): 1123-1131.
- [19] Chung C C, Lin Y K, Chen Y C, et al. Empagliflozin suppressed cardiac fibrogenesis through sodium-hydrogen exchanger inhibition and modulation of the calcium homeostasis[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2023, 22(1): 27.
- [20] Băghină R M, Crișan S, Luca S, et al. Association between inflammation and new-onset atrial fibrillation in acute coronary syndromes[J]. *J Clin Med*, 2024, 13(17): 5088.
- [21] Liu M, Li W, Wang H, et al. CTRP9 ameliorates atrial inflammation, fibrosis, and vulnerability to atrial fibrillation in post-myocardial infarction rats[J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(21): e013133.
- [22] Wiersma M, van Marion D M S, Wüst R C I, et al. Mitochondrial dysfunction underlies cardiomyocyte remodeling in experimental and clinical atrial fibrillation[J]. *Cells*, 2019, 8(10): 1202.
- [23] Qi X, Xiong F, Xiao J, et al. Time-dependent mitochondrial remodeling in experimental atrial fibrillation and potential therapeutic relevance[J]. *bioRxiv [Preprint]*, 2025, 2025. 01. 29. 635508.
- [24] Yang X, An N, Zhong C, et al. Enhanced cardiomyocyte reactive oxygen species signaling promotes ibrutinib-induced atrial fibrillation[J]. *Redox Biol*, 2020, 30: 101432.

## 诺丽果延缓秀丽隐杆线虫衰老的作用

王琦<sup>1</sup>, 李丽丹<sup>2#</sup>, 肖曼<sup>3</sup>, 谢毅强<sup>3\*</sup>, 马天鹏<sup>3\*</sup>

(1. 黑龙江省中医药科学院, 黑龙江 哈尔滨 150036; 2. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025; 3. 海南医科大学, 海南海口 571199)

**摘要:** **目的** 探究诺丽果 (Noni) 延长秀丽隐杆线虫寿命的作用机制。**方法** 将线虫随机分为空白组和 50、100、200 μg/mL Noni 组, 观察其寿命、运动、咽泵频率、应激反应以及油红 O 染色; 测定线虫体内脂褐素和 ROS 水平; RT-qPCR 法检测衰老及脂代谢相关基因 mRNA 表达, 以及观察突变株 *daf-16* (CF1038)、*daf-2* (CB1370) 寿命和 *daf-16::GFP* (TJ356) 的核转移。**结果** 与空白组比较, Noni 组有效延长了线虫的寿命, 减少了脂褐素和脂滴的积累, 提高了线虫的运动和咽泵能力, 增强了抗应激能力, 并降低了体内 ROS 水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。此外, Noni 组还促进了 *daf-16* 转录因子的核转移, 但对突变株 *daf-2*、*daf-16* 的寿命无显著影响 ( $P > 0.05$ )。Noni 组上调了 *daf-16*、*skn-1*、*sod-3*、*gst-4*、*hsp-12.6* mRNA 表达, 同时下调了 *daf-2*、*age-1*、*sbp-1*、*fat-5*、*fat-6*、*fat-7* mRNA 表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** 诺丽果延长寿命的作用机制与 IIS 信号通路和脂代谢相关基因的表达密切相关。

**关键词:** 诺丽果; 秀丽隐杆线虫; 衰老; 氧化应激; 脂代谢; IIS 信号通路

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2026)02-0610-08

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.02.037

衰老是机体随时间推移自发发生结构和功能衰退的过程, 伴随细胞衰老、DNA 损伤、端粒缩短、蛋白质稳态失衡、表观遗传调控异常、线粒体功能障碍及氧化应激的积累等多种改变<sup>[1]</sup>。全球人口老龄化加剧, 导致衰老相关的慢性疾病 (如心血管疾病、阿尔茨海默病、神经退行性疾病和糖尿

病) 发病率显著上升<sup>[2]</sup>。延缓衰老、提升健康寿命及防治慢性疾病已成为全球关注的焦点<sup>[3]</sup>。天然产物因多成分、多靶点、毒副作用少和作用持久等优点<sup>[4]</sup>, 成为抗衰老研究的热点。海巴戟为茜草科巴戟天属植物, 其果实俗称诺丽 (Noni), 《本草纲目》中提到: “海巴戟, 生岭南……, 强

**收稿日期:** 2025-05-30

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (82174334)

**作者简介:** 王琦 (1996—), 女, 硕士在读, 研究方向为中医药防治内分泌及代谢性疾病。E-mail: 17634008417@163.com

**#共同第一作者:** 李丽丹 (1996—), 女 (水族), 硕士在读, 研究方向为中医药防治内分泌及代谢性疾病。E-mail: 991998649@qq.com

**\*通信作者:** 谢毅强 (1972—), 男, 二级教授, 博士生导师, 从事中医药防治内分泌及代谢性疾病的研究。E-mail: xieyiqiang@muh.edu.cn

马天鹏 (1991—), 男, 讲师, 主治医师, 从事中医药防治内分泌及代谢性疾病的研究。E-mail: hy0113085@muh.edu.cn

筋骨,安五脏,补中增志益气”。现代研究显示,诺丽果富含多糖、酚类、三萜类及黄酮类等多种生物活性成分<sup>[5]</sup>,具有抗氧化、降脂等丰富营养价值,可作为抗衰老的研究对象。

秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 是用于建立衰老经典模型的常用动物,其生命周期短、遗传背景清晰、实验操作简便、表型易于观察等突出优势<sup>[6]</sup>。其衰老机制与胰岛素/胰岛素样生长因子1 (insulin/IGF-1, IIS) 信号通路、饮食限制和氧化应激等高度保守<sup>[7-9]</sup>。本研究基于诺丽果的抗氧化与降脂特性,探究其延缓衰老的作用机制,以期为天然产物抗衰老的研究提供新思路。

## 1 材料

1.1 线虫 秀丽隐杆线虫菌株包括野生型秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*, N2)、TJ356 (daf-16::GFP)、CF1038 (daf-16 [mu86] I)、CB1370 (daf-2 [e1370] III) 菌株均购自美国明尼苏达公司;大肠杆菌 (*E. coli* OP50) 由昆明植物研究所罗怀荣团队提供。

1.2 试剂 Eastep<sup>®</sup> Super 总 RNA 提取试剂盒 [普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司,批号 0000546524]; RNApure Fast Tissue & Cell Kit 试剂盒、SuperStar Universal SYBR Master Mix、HiFiScript All-in-one RT Master Mix for qPCR 试剂盒 (江苏康为世纪生物科技股份有限公司,批号 24924、21924、24224); Hieff<sup>®</sup> qPCR SYBR Green Master Mix [翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司,批号 WH6411020]; 油红 O 染色试剂盒 (江苏凯基生物科技股份有限公司,批号 20240919); 活性氧 (ROS) 检测试剂盒 (兰杰柯科技有限公司,批号 21337824)。

1.3 仪器 低速台式离心机 (上海安亭科学仪器厂); 高速低温组织研磨仪 (武汉赛维尔生物科技股份有限公司); 梯度 PCR 扩增仪 (海南星诺生物科技股份有限公司); 立式高压蒸汽灭菌锅 (上海申安医疗器械厂); 倒置显微镜成像系统 (宁波永新光学股份有限公司); 光学显微镜 (麦克奥迪医疗)。

## 2 方法

2.1 诺丽果水提取物制备 诺丽果 (批号 20220304) 购于五指山万家宝科技有限公司,经安徽省中鼎检测技术有限公司检测合格。取 100 g 进行粉碎,按照中药煎煮标准,将其粉碎物放入煎药砂锅,加入常温水没过药面并浸泡 30 min,煮沸后文火煮 30 min,滤出药液,重复 1 次,将 2 次药

液混合,过滤,得到的澄清滤液通过旋转蒸发器 55 ℃ 旋转蒸发萃取,重复 2~3 次,直至液体充分蒸发成膏状物质,将获得的浓缩水提取物放至烘箱干燥,即得诺丽果水提取物固体 22.4 g,得率为 22.4%。最后,将 100 mg 诺丽果水提取物溶于 100 mL 双重去离子水 (dd H<sub>2</sub>O) 中,得到质量浓度为 1 mg/mL 的诺丽果水提物,备用。

### 2.2 秀丽隐杆线虫培养与同步化

2.2.1 NGM 培养基制备 将 2 g 蛋白胨、13.6 g 琼脂粉、2.4 g 氯化钠、800 mL dd H<sub>2</sub>O、20 mL 1 mol/L 磷酸钾缓冲液加入 1 000 mL 烧瓶,121 ℃ 高压蒸汽灭菌 20 min,放置于 55 ℃ 水浴锅中冷却,再依次加入 1 mol/L MgSO<sub>4</sub> 溶液 (dd H<sub>2</sub>O 配制,高温灭菌)、1 mol/L CaCl<sub>2</sub> 溶液 (dd H<sub>2</sub>O 配制,高温灭菌)、5 mg/mL 胆固醇溶液 (无水乙醇配制,避光) 各 800 mL,摇匀即得到完全培养基,在超净台下将其倒入无菌培养皿内,紫外线灯照射 30 min,待其完全冷却凝固后置于 4 ℃ 冰箱保存备用。

2.2.2 *E. coli* OP50 菌液制备 称取 2.5 g LB 肉汤,加 100 mL dd H<sub>2</sub>O,121 ℃ 高压蒸汽灭菌 20 min,冷却后置于 4 ℃ 保存备用。使用无菌接种环沾取 *E. coli* OP50 菌液在不含抗生素的固体 LB 平板上划取单个菌落,在 37 ℃ 恒温箱培养 12 h,用封口膜封口后于 4 ℃ 冰箱保存备用。用 10 μL 无菌枪头挑取单个菌落于 100 mL LB 液体培养基中,置于 37 ℃ 恒温箱摇床中振荡过夜培养 12 h,于 4 ℃ 冰箱保存备用。

2.2.3 培养及同步化 采用无菌接种环将适量 *E. coli* OP50 菌液均匀涂抹于新的 NGM 培养基表面,用于日常线虫培养。用 dd H<sub>2</sub>O 冲洗 2~3 次有多个处于高产卵期的 N2 虫体的 NGM 培养基,将冲洗下来的内容物置于 15 mL 离心管中,常温静置 3~5 min,去除废液,沉淀物再加入 dd H<sub>2</sub>O 冲洗 2 次。沉淀物加入 1 mL 裂解液 (按照 10% 次氯酸钠 : 5 mol/L 氢氧化钠 : dd H<sub>2</sub>O = 1 : 1 : 8 比例进行配制,避光保存),3 000 r/min 离心 1 min,重复裂解 1 次。沉淀物用 dd H<sub>2</sub>O 洗涤后,最后加入适量 dd H<sub>2</sub>O 混匀,置于新的 NGM 培养基,20 ℃ 恒温箱倒置培养 48 h,即得 L4 期幼虫,用于后续实验。

2.3 分组及给药 将 *E. coli* OP50 菌液 3 500 r/min 离心 5 min,弃上清,加入不同体积的诺丽果水提物和 dd H<sub>2</sub>O 使溶液体积最终均为 10 mL,配制得到质量浓度为 0 (只含 *E. coli* OP50 菌液空白对照组培养液)、50、100、200 μg/mL 的诺丽果

水提物培养液, 分别加于空白 NGM 板中央, 37 °C 恒温箱烘干, 置于 4 °C 冰箱保存备用。

2.4 *E. coli* OP50 生长测定 参考文献 [10] 报道方法, 将 100 μg/mL 诺丽果水提物培养液与 *E. coli* OP50 菌液按照 1 : 9 比例进行混合, 分组为 LB 肉汤 (4 000 μL, 不含 *E. coli* OP50, 排除 LB 肉汤干扰)、LB+*E. coli* OP50 (4 000 μL)、LB+*E. coli* OP50+100 μg/mL 诺丽果水提物培养液 (LB+*E. coli* OP50 3 600 μL+100 μg/mL 诺丽果水提物培养液 400 μL); 接种于 96 孔板, 每组 3 复孔, 每孔加 200 μL, 在 600 nm 波长处测定吸光度, 记为初始读数, 之后将剩余溶液放于 37 °C 恒温摇床内, 每隔 1 h 进行测定, 共测定 6 次, 最后进行数据分析。

2.5 寿命实验 参考文献 [11] 报道方法, 将同步化后的 L4 期幼虫, 挑至含有 *E. coli* OP50+不同质量浓度 (50、100、200 μg/mL) 诺丽果水提物培养液和只含有 *E. coli* OP50 (空白组) 的 NGM 平板上, 置于 20 °C 恒温箱中培养, 为避免其子代的干扰, 每隔 48 h 将线虫转移到新的 NGM 平板上。转移后每天在显微镜下观察线虫的生存状况, 用铂针轻触线虫, 若触碰后身体僵直、不弯曲或头部不摆动, 则判定为死亡。记录存活和死亡数量, 直至线虫完全死亡, 最后记录线虫寿命时间, 计算平均寿命延长率, 公式为平均寿命延长率= [(给药组平均寿命-空白组平均寿命)/空白组平均寿命] ×100%。每个 NGM 板上 30 条线虫, 进行 3 次重复。

2.6 生殖实验 将同步化后的 L4 期幼虫, 挑至含有 *E. coli* OP50+100 μg/mL 诺丽果水提物培养液和只含有 *E. coli* OP50 (空白组) 的 NGM 平板上, 20 °C 恒温箱培养, 为避免其子代的干扰, 每天将线虫更换至新的 NGM 平板上, 直到线虫不再产卵, 在显微镜下观察并记录每天的产卵数量。统计每日产卵数量的总和为线虫总产卵数量。每组观察 1 条线虫, 进行 3 次重复。

2.7 咽泵频率和运动能力 将同步化后的 L4 期幼虫培养至第 5 天, 在显微镜下观察并记录单条线虫吞咽、头部摆动、静态下线虫进行自发正弦运动以及刺激其头后进行身体弯曲的次数, 观察时间分别为 30、30、30、20 s。每组观察 5 条线虫, 进行 3 次重复。

2.8 热应激实验 将同步化后的 L4 期幼虫培养至第 5 天, 将所有线虫分别挑到新的只含 *E. coli*

OP50 的 NGM 平板中, 置于 37 °C 恒温箱进行热刺激培养, 每隔 1 h 在显微镜下观察并记录线虫存活情况, 直至所有线虫全部僵直死亡, 最后统计线虫的存活率并绘制生存曲线图。每组 30 条线虫, 进行 3 次重复。

2.9 氧化应激实验 将同步化后的 L4 期幼虫培养至第 5 天, 将所有线虫分别挑到新的含有 *E. coli* OP50+100 μL 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的 NGM 平板中, 室温下培养, 每隔 0.5 h 在显微镜下观察并记录线虫的存活和死亡情况, 直至所有线虫僵直死亡, 统计线虫的存活率并绘制生存曲线图。每组 30 条线虫, 进行 3 次重复。

2.10 线虫体内脂核素积累水平和 ROS 水平检测 将同步化后的 L4 期幼虫培养至第 7 天, dd H<sub>2</sub>O 清洗 2 次, 使用 2 mmol/L 盐酸左旋咪唑进行麻醉固定。ROS 水平检测, 使用 10 μmol/L DCFH-DA 探针 20 °C 避光染色 30 min; 脂核素积累水平则不染色。各组随机挑选线虫, 将其放置于载玻片上, 使用倒置荧光显微镜观察并拍照, 通过 Image J 软件进行荧光定量分析。

2.11 油红 O 染色 参考文献 [12] 报道方法, 将同步化后的 L4 期幼虫培养至第 7 天, dd H<sub>2</sub>O 清洗 2 次, 用 4% 甲醛固定 5 min, 孵育液孵育 10 min, 油红 O 染色液染色 15 min, 脱色液 A、脱色液 B 冲洗 2 次, 苏木素染核 20 s, 脱色液 B 冲洗 2 次。各组随机挑选线虫, 将其放置于载玻片上, 使用倒置荧光显微镜观察并拍照, 通过 Image J 软件进行定量分析。

2.12 线虫 daf-16::GFP 荧光检测 参考文献 [13] 报道方法, 将同步化后 L4 期的 daf-16::GFP 线虫挑至含有 *E. coli* OP50+100 μg/mL 诺丽果水提物的培养液和只含有 *E. coli* OP50 (空白组) 的 NGM 平板上, 于 20 °C 恒温箱中培养至第 5 天, 为避免其子代的干扰, 每天将线虫更换至新的 NGM 平板上, dd H<sub>2</sub>O 清洗 2 次, 使用 2 mmol/L 盐酸左旋咪唑进行麻醉固定, 每组随机挑选线虫, 将其放置于载玻片上, 使用倒置荧光显微镜观察并拍照, 通过 Image J 软件进行荧光定量分析。

2.13 RT-qPCR 检测 将同步化后的 L4 期幼虫培养至第 5 天, dd H<sub>2</sub>O 清洗 2 次, 用高速低温组织研磨仪对线虫进行研磨, 在冰上低温提取总 RNA; 再按照逆转录试剂盒说明书合成 cDNA; 最后按照 qPCR SYBR Green Master Mix 试剂盒说明书设定循环条件进行基因扩增, 检测目标基因表达情况。以

*cdc-42* 为内参基因，采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法对数据进行分析。所有引物均由广州艾基生物技术有限公司合成，序

列见表 1。每组 3 个样本，每个样本线虫数达 600 条以上。

表 1 引物序列

基因	序列(5'→3')	基因	序列(5'→3')
<i>daf-2</i>	正向 GGTGGAAGGTTTCGCTGACAA	<i>hsp-12.6</i>	正向 AGCCATAACTTCCCCAA
	反向 AAAACGAGCAGAGTTCCAGT		反向 TCCATGTGAATGGAAGTTGCTC
<i>daf-16</i>	正向 GTCAGCAACCATTCCCAT	<i>nhr-49</i>	正向 GCCAATGCCACAACCTCAGA
	反向 TCTGCTGCTGTTGAGAGGAA		反向 TGAGTCAGAGCCTTGAGAGC
<i>age-1</i>	正向 AAGCCCCCTCCACGACATTT	<i>fat-5</i>	正向 TCCGACAAAATGCAGGAAGAG
	反向 CCATCGTTTGAGTTGTGGA		反向 CCCATCCAACCTGAGCCCA
<i>skn-1</i>	正向 GGTTTCATCACGCCGAC	<i>fat-6</i>	正向 GAATGGGCTCGTGATCATCG
	反向 GTCGTCTCTTCTTCGTCGTC		反向 TGGAAGACGAGAACTGGGTC
<i>sod-3</i>	正向 CCAAGCACACTCTCCGAGAT	<i>fat-7</i>	正向 TTCACACTTCACGCCACTTG
	反向 CGAAACAGCCTCGTCAAGTT		反向 CTTGTGGGAATGTGTGGTGG
<i>gst-4</i>	正向 GCAGAGGAAGAAGCTTACGC	<i>cdc-42</i>	正向 GGGTGCCTAAATTTCCCAT
	反向 ATGATCAGCCTCACTTCCAT		反向 CACTCGCTGCCAGATTACC

2.14 统计学分析 通过 GraphPad Prism 9.5 软件进行处理，数据以  $(\bar{x} \pm s)$  表示，多组间比较采用单因素方差分析，2 组间比较采用 *t* 检验；生存曲线实验结果采用 Log-rank test 进行分析。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 诺丽果对 *E. coli* OP50 生长繁殖的影响 与空白组比较，Noni 组对 *E. coli* OP50 生长繁殖无明显影响 ( $P > 0.05$ )，见图 1。

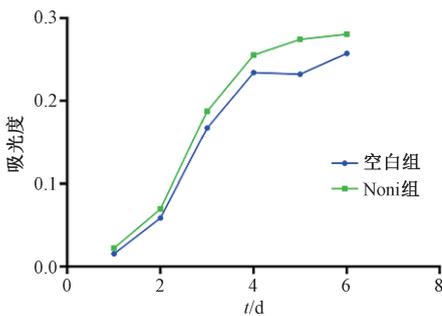


图 1 诺丽果对 *E. coli* OP50 生长繁殖的影响 ( $n = 6$ )

3.2 诺丽果对秀丽隐杆线虫寿命的影响 与空白组 (21 d 寿命) 比较，50、100、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Noni 组最长寿命分别为 23、25、23 d，平均寿命分别延长了 10.75%、22.78%、8.48%，其中 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Noni 延长寿命效果最为显著 ( $P < 0.05$ )，见表 2。

表 2 诺丽果水提取物溶液对线虫寿命的影响 ( $n = 3$ )

组别	平均寿命/d	平均寿命延长率/%	最长寿命/d
空白组	12.20±0.052	0	21
50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Noni 组	13.67±0.054	10.75	23
100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Noni 组	15.80±0.056	22.78*	25
200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Noni 组	13.33±0.051	8.48	23

注：与空白组比较，\*  $P < 0.05$ 。

3.3 诺丽果对秀丽隐杆线虫生殖能力的影响 与空白组比较，Noni 组产卵数量无明显变化 ( $P > 0.05$ )，见图 2。

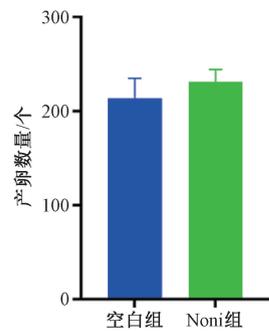
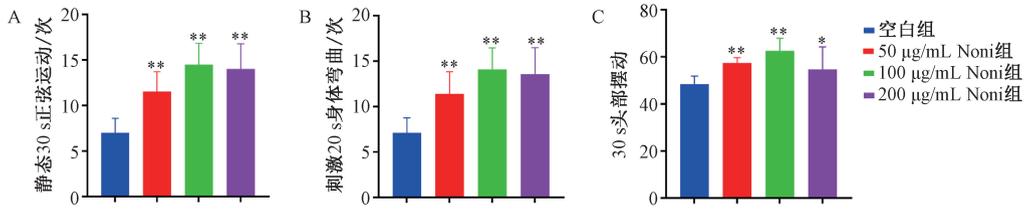


图 2 诺丽果对秀丽隐杆线虫生殖能力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

3.4 诺丽果对秀丽隐杆线虫运动能力的影响 随着年龄增长，线虫的体壁肌肉细胞衰老、肌动蛋白纤维降解以及神经肌肉接头退化，导致身体蠕动速度显著下降，单位时间内身体弯曲频率减少、运动轨迹紊乱<sup>[14-16]</sup>。与空白组比较，不同质量浓度 Noni 组线虫静态 30 s 正弦运动次数、刺激 20 s 身体弯曲次数以及 30 s 头部摆动次数均增加 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )，提示运动能力提高，其中 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  质量浓度效果最为显著，故后续实验均采用此质量浓度，见图 3。

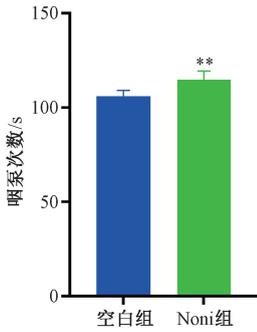
3.5 诺丽果对秀丽隐杆线虫咽泵能力的影响 与空白组比较，Noni 组咽泵能力提高 ( $P < 0.01$ )，见图 4。

3.6 诺丽果对秀丽隐杆线虫抗应激能力的影响 与空白组比较，Noni 组延长了热应激环境下线虫的寿命 ( $P < 0.01$ )，上调了热休克蛋白 *hsp-12.6* 的 mRNA 表达 ( $P < 0.01$ )；逆转了  $\text{H}_2\text{O}_2$  对线虫的



注：与空白组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ 。

图3 诺丽果水提取物对秀丽隐杆线虫运动能力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )



注：与空白组比较，\*\*  $P < 0.01$ 。

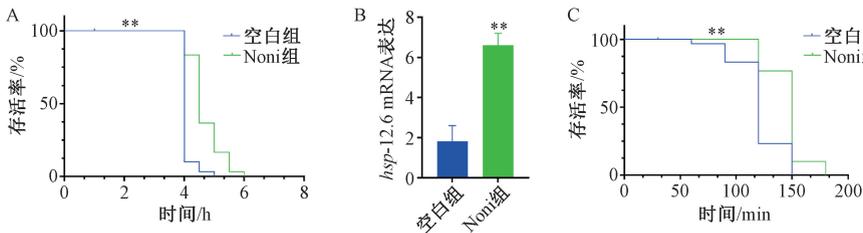
图4 诺丽果水提取物对秀丽隐杆线虫咽泵的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )

损害，延长了其寿命 ( $P < 0.01$ )，见图5。结果表明，诺丽果显著提高了线虫的抗压能力。

3.7 诺丽果对秀丽隐杆线虫脂核素积累的影响 与空白组比较，Nongli组荧光强度减弱 ( $P < 0.01$ )，表明脂核素积累减少，见图6。

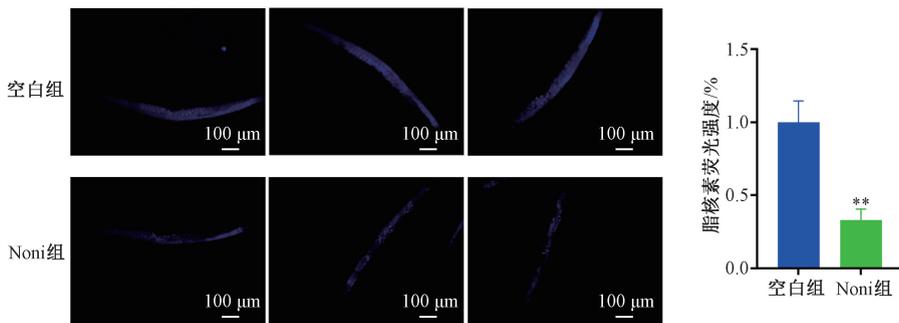
3.8 诺丽果对秀丽隐杆线虫ROS积累及抗氧化基因表达的影响 与空白组比较，Nongli组线虫ROS积累减少 ( $P < 0.05$ )，*skn-1*、*sod-3*、*gst-4* mRNA表达升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，见图7。

3.9 诺丽果对秀丽隐杆线虫脂质积累及脂代谢相关基因表达的影响 与空白组比较，Nongli组线虫



注：A为热应激环境下线虫的寿命；B为*hsp-12.6* mRNA表达比较；C为氧化应激环境下线虫的寿命。与空白组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ 。

图5 诺丽果水提取物对线虫抗压能力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )



注：与空白组比较，\*\*  $P < 0.01$ 。

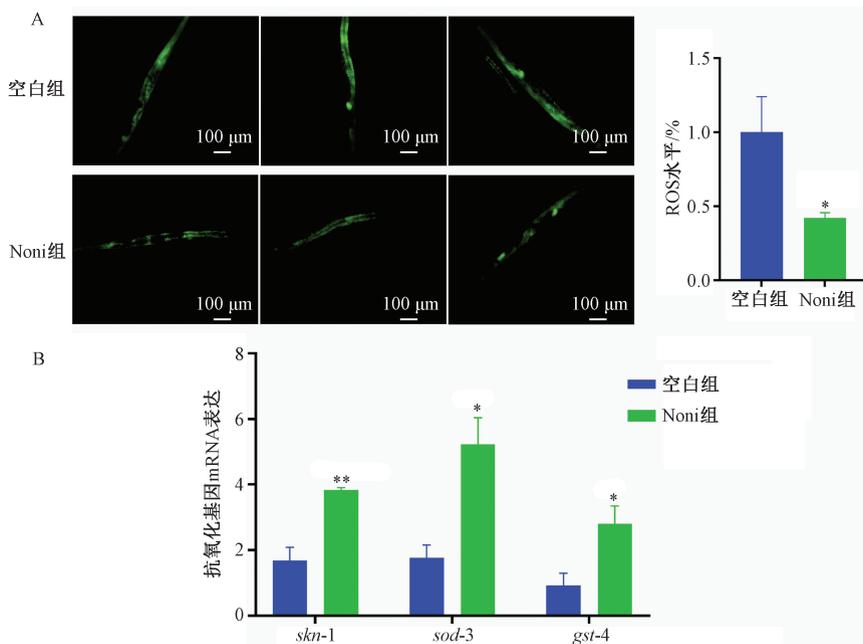
图6 诺丽果水提取物对秀丽隐杆线虫脂核素积累的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

体内脂滴数量减少 ( $P < 0.05$ )，Nongli组 *nhr-49* mRNA表达升高 ( $P < 0.05$ )，*sbp-1*、*fat-5*、*fat-6*、*fat-7* mRNA表达降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，见图8。

3.10 诺丽果通过调控胰岛素信号通路对秀丽隐杆线虫寿命的影响 与空白组比较，Nongli组线虫IIS通路上游基因 *daf-2*、*age-1* mRNA表达降低

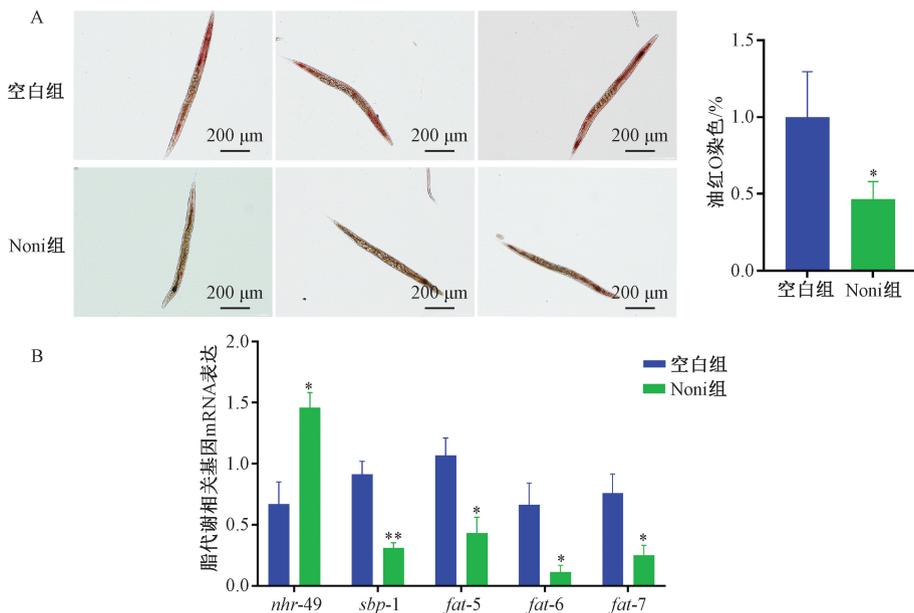
( $P < 0.05$ )，*daf-16* mRNA表达升高 ( $P < 0.01$ )，见图9A。

为了验证诺丽果是否通过抑制IIS通路来延缓秀丽隐杆线虫衰老，采用突变株 *daf-16* (CF1038)、*daf-2* (CB1370) 进行寿命实验，并在荧光显微镜下观察突变株 *daf-16::GFP* 入核情况。



注：A 为 ROS 荧光染色；B 为 *skn-1*、*sod-3*、*gst-4* mRNA 表达比较。与空白组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ 。

图 7 诺丽果水提取物对秀丽隐杆线虫 ROS 积累及抗氧化基因表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )



注：A 为油红 O 染色；B 为 *nhr-49*、*sbp-1*、*fat-5*、*fat-6*、*fat-7* mRNA 表达比较。与空白组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ 。

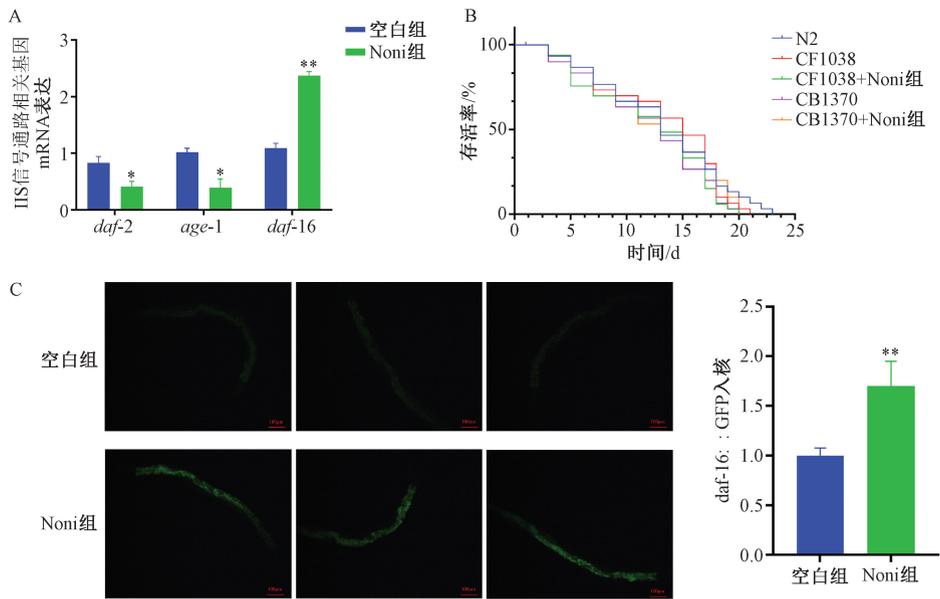
图 8 诺丽果水提取物对秀丽隐杆线虫脂质积累以及脂代谢相关基因表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

结果表明，与空白组比较，给予诺丽果水提取物培养液处理的突变株寿命并没有延长 ( $P > 0.05$ )；*daf-16::GFP* 经诺丽果水提取物培养液处理后入核增加，说明诺丽果可通过调控 IIS 通路延缓秀丽隐杆线虫衰老，见图 9B~9C。

#### 4 讨论

秀丽隐杆线虫随时间进程性衰老且生理功能逐渐下降，这一过程与人类高度相似<sup>[17]</sup>。因此，本

研究以线虫模型为研究对象，发现诺丽果可延长线虫生存时间；提高身体摆动次数和吞咽频率。线虫衰老时热休克蛋白表达降低，热应激下其介导的蛋白正确折叠功能受损，致使细胞稳态失衡<sup>[18-19]</sup>。本结果显示，诺丽果可延缓应激环境下线虫的衰老，上调热休克蛋白 *hsp-12.6* mRNA 表达，增强其抗逆性。另外，随着衰老线虫体内抗氧化酶（如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶）活性降低，引起



注：A为 *daf-2*、*daf-16*、*age-1* mRNA 表达比较；B为突变株 *daf-16* (CF1038)、*daf-2* (CB1370) 寿命实验；C为突变株 *daf-16*::GFP 核移位图像。与空白组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ 。

图9 诺丽果通过调控胰岛素信号通路对秀丽隐杆线虫寿命的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

活性氧过度积累，导致蛋白质、DNA及脂质氧化损伤，进而诱发细胞功能障碍与凋亡<sup>[20-21]</sup>。有研究表明，发酵的诺丽果果汁通过 Nr-f2/ARE 通路和肠道菌群的协同作用，有效缓解体内外实验的胰岛素抵抗和氧化应激等症<sup>[22]</sup>。脂核素积累是秀丽隐杆线虫衰老的重要标志物，在线虫体内，自发荧光的脂核素颗粒会随年龄增长成倍累积，能直接反映体内氧化损伤程度<sup>[23]</sup>。本研究结果显示诺丽果可降低 ROS 和脂褐素水平，这与之前研究结果一致，证实了诺丽果具有一定的抗衰老作用。

胰岛素/IIS 信号通路是调控线虫寿命的关键通路，当转录因子 *daf-16* (为 FOXO 同源基因) 功能被抑制时，*daf-16* 则被激活并转移至细胞核内，上调下游靶点超氧化物歧化酶 (*sod-3*)、谷胱甘肽转移酶 (*gst-4*) 等抗氧化基因的表达，增强应激抵抗力，从而延长寿命<sup>[24]</sup>。另一个重要成员 *skn-1* (或称 Nrf2 同源物) 是秀丽隐杆线虫中的一种关键转录因子，共同参与调控抗氧化基因以及寿命相关基因表达；二者协同调控寿命，提高氧化防御系统<sup>[25-26]</sup>。为了进一步明确诺丽果抗衰作用机制，本研究检测了 IIS 信号通路的相关基因 mRNA 表达，结果显示诺丽果促进 *daf-16*、*skn-1*、*sod-3*、*gst-4* mRNA 表达，同时抑制 *daf-2*、*age-1* mRNA 表达。对 *daf-2* 突变株 CB1370、*daf-16* 突变株 CF1038 进行寿命实验，并结合 *daf-16*::GFP 核转移实验，结果显示，诺丽果抗衰老作用被抑制，*daf-16*::

GFP 核转移增多，证明诺丽果通过 IIS 通路发挥延缓衰老作用。

脂肪是机体不可或缺的结构成分，也是储备能量的重要组织；衰老会导致体内脂代谢紊乱，而脂代谢异常又会引起氧化应激、炎症等反应加速衰老进程<sup>[27]</sup>。近年多项研究表明，诺丽果多种活性成分可通过多途径发挥降脂作用<sup>[28]</sup>。*sbp-1* 是 SREBP-1c (固醇调节元件结合蛋白-1c) 的同源基因，主要参与调控脂质合成；其下游靶点 *fat-7* 是硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 (SCD1) 的同源基因。*nhr-49* 是人类过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) 的同源基因，参与脂肪酸  $\beta$ -氧化以及脂质转运相关基因的表达<sup>[29]</sup>。本研究发现，经诺丽果处理的线虫体内脂滴积累减少；*sbp-1*、*fat-5*、*fat-6*、*fat-7* 等脂肪合成基因的 mRNA 表达降低，脂质生成受到抑制；*nhr-49* mRNA 表达升高，脂肪酸  $\beta$ -氧化增加，表明诺丽果具有降脂作用。

综上所述，本研究首次揭示了诺丽果可调控 IIS 通路和脂代谢相关基因，发挥抗衰、抗氧化以及降脂作用。本研究仅局限于秀丽隐杆线虫这一种模型，未来可对多种模型进行研究探索；也可针对性研究诺丽果单个活性成分 (如多糖、黄酮类) 的具体作用靶点，进一步探究诺丽果及其活性成分在抗衰老领域的实际应用。

**利益冲突：**所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献:

- [ 1 ] Muthamil S, Kim H Y, Jang H J, et al. Biomarkers of cellular senescence and aging: current state-of-the-art, challenges and future perspectives[J]. *Adv Biol (Weinh)*, 2024, 8(9): e2400079.
- [ 2 ] Wong M Y C, Ou K L, Chung P K, et al. The relationship between physical activity, physical health, and mental health among older Chinese adults: a scoping review[J]. *Front Public Health*, 2022, 10: 914548.
- [ 3 ] Kemoun P, Ader I, Planat-benard V, et al. A gerophysiology perspective on healthy ageing[J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 73: 101537.
- [ 4 ] Yang C, Zhang W, Dong X, et al. A natural product solution to aging and aging-associated diseases[J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 216: 107673.
- [ 5 ] Huo X, Sun S, Li K, et al. Constituent analysis, laxative activity, and toxicological evaluation of methanol extract of noni fruit (*Morinda citrifolia* L., Rubiaceae) [J]. *Food Chem X*, 2023, 20: 100925.
- [ 6 ] Rubio-tomÁs T, Tavernarakis N. Lipid metabolism and ageing in *Caenorhabditis elegans*: a complex interplay[J]. *Biogerontology*, 2022, 23(5): 541-557.
- [ 7 ] Lee H, Lee S V. Recent progress in regulation of aging by insulin/IGF-1 signaling in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Mol Cells*, 2022, 45(11): 763-770.
- [ 8 ] Wu Z, Isik M, Moroz N, et al. Dietary restriction extends lifespan through metabolic regulation of innate immunity[J]. *Cell Metab*, 2019, 29(5): 1192-1205. e8.
- [ 9 ] Phan H D, Nguyen T T M, Lee S, et al. The metabolic contribution of SKN-1/Nrf2 to the lifespan of *Caenorhabditis elegans*[J]. *Metabolomics*, 2023, 19(6): 58.
- [ 10 ] He W, Liu Z, Zhang H, et al. Bisphenol S decreased lifespan and healthspan via insulin/IGF-1-like signaling-against mitochondrial stress in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2024, 285: 117136.
- [ 11 ] Xiao M, Chen B, Niu K, et al. Alpiniae oxyphylla fructus extract promotes longevity and stress resistance of *C. elegans* via DAF-16 and SKN-1 [ J ]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1034515.
- [ 12 ] Wang F Y, Ching T T. Oil red O staining for lipid content in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Bio Protoc*, 2021, 11(16): e4124.
- [ 13 ] Zhang Z, Li J, Li F, et al. *Jujubae Fructus* extract prolongs lifespan and improves stress tolerance in *Caenorhabditis elegans* dependent on DAF-16/SOD-3[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 13713.
- [ 14 ] Son H G, Altintas O, Kim E J E, et al. Age-dependent changes and biomarkers of aging in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Aging Cell*, 2019, 18(2): e12853.
- [ 15 ] Johnston J, Iser W B, Chow D K, et al. Quantitative image analysis reveals distinct structural transitions during aging in *Caenorhabditis elegans* tissues[J]. *PLoS One*, 2008, 3(7): e2821.
- [ 16 ] Bolanowski M A, Russell R L, Jacobson L A. Quantitative measures of aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*. I. Population and longitudinal studies of two behavioral parameters[J]. *Mech Ageing Dev*, 1981, 15(3): 279-295.
- [ 17 ] Yarmey V R, San-miguel A. Biomarkers for aging in *Caenorhabditis elegans* high throughput screening[J]. *Biochem Soc Trans*, 2024, 52(3): 1405-1418.
- [ 18 ] Kovács D, BirÓ J B, Ahmed S, et al. Age-dependent heat shock hormesis to HSF-1 deficiency suggests a compensatory mechanism mediated by the unfolded protein response and innate immunity in young *Caenorhabditis elegans*[J]. *Aging Cell*, 2024, 23(10): e14246.
- [ 19 ] Higuchi-Sanabria R, Frankino P A, Paul J W 3rd, et al. A futile battle? Protein quality control and the stress of aging[J]. *Dev Cell*, 2018, 44(2): 139-163.
- [ 20 ] Landis G N, Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation[J]. *Mech Ageing Dev*, 2005, 126(3): 365-379.
- [ 21 ] Meng J, Lv Z, Qiao X, et al. The decay of redox-stress response capacity is a substantive characteristic of aging: revising the redox theory of aging[J]. *Redox Biol*, 2017, 11: 365-374.
- [ 22 ] Zhang X, Zhang B, Li L, et al. Fermented noni (*Morinda citrifolia* L.) fruit juice improved oxidative stress and insulin resistance under the synergistic effect of Nrf2/ARE pathway and gut flora in db/db mice and HepG2 cells[J]. *Food Funct*, 2022, 13(15): 8254-8273.
- [ 23 ] Liu Y, Wang Y, Liang Y, et al. Transcriptomics and metabolomics revealed the effects of *Polygonatum Rhizoma* polysaccharide on delaying *C. elegans* senescence and ameliorating Alzheimer's disease[J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 327(Pt 2): 147375.
- [ 24 ] Martins R, Lithgow G J, Link W. Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity[J]. *Aging Cell*, 2016, 15(2): 196-207.
- [ 25 ] Turner C D, Curran S P. Activated SKN-1 alters the aging trajectories of long-lived *Caenorhabditis elegans* mutants[J]. *Genetics*, 2025, 229(4): iyaf016.
- [ 26 ] Mutlu A S, Duffy J, Wang M C. Lipid metabolism and lipid signals in aging and longevity[J]. *Dev Cell*, 2021, 56(10): 1394-1407.
- [ 27 ] Turner C D, Ramos C M, Curran S P. Disrupting the SKN-1 homeostat: mechanistic insights and phenotypic outcomes[J]. *Front Aging*, 2024, 5: 1369740.
- [ 28 ] Inada A C, Silva g T, Silva L, et al. Therapeutic effects of *Morinda citrifolia* Linn. (Noni) aqueous fruit extract on the glucose and lipid metabolism in high-fat/high-fructose-fed swiss mice[J]. *Nutrients*, 2020, 12(11): 3439.
- [ 29 ] Luo D, Wang W, Jin M, et al. Mechanism of polyphenol-pea starch complexes on reducing fat accumulation in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Food Res Int*, 2025, 209: 116308.