

棕榈酸抑制果蝇幼虫的生长发育及糖脂代谢

章嘉淇, 吴进兰, 吴明江, 佟海滨*

(温州大学生命与环境科学学院, 浙江温州 325035)

摘要: 为探究棕榈酸 (palmitic acid, PA) 是否导致代谢综合征的发生, 该实验选用模式生物黑腹果蝇, 采用玉米粉酵母标准培养基作对照组, 以在标准培养基中加入 2.50% 浓度的 PA 为实验组。分别对果蝇的幼虫体重、蛹化率与羽化率、蛹重、蛹面积、蛹体积、成虫体重、成虫爬行能力、成虫翅膀面积大小以及三龄幼虫体内海藻糖、甘油三酯、胰岛素样肽 *Dilp2*、*Dilp3*、*Dilp5* 的含量进行检测。结果表明: 相比于 CTRL 组, PA 导致果蝇的蛹化率及羽化率分别降低了 3.75% 和 10.03%, 蛹面积和蛹体积有所下降。PA 组雌性成虫体重与 CTRL 组相比减小了 0.13 mg, 雄性成虫体重减少了 0.10 mg。PA 组雌蝇的运动活性降低了 41.35%, 雄蝇降低了 22.78%。PA 组雌性果蝇翅膀面积明显减小, 而雄性果蝇无明显差异。PA 组幼虫海藻糖和甘油三酯含量明显升高, 而 *Dilp2*、*Dilp3*、*Dilp5* 的表达量显著下降。以上结果表明 PA 抑制果蝇的生长发育, 扰乱了幼虫的糖脂代谢平衡, 该研究可为探究高脂饮食引起代谢综合征的发生机制研究提供一定的科学依据。

关键词: 棕榈酸; 代谢综合征; 糖脂代谢; 果蝇; 生长发育

文章编号: 1673-9078(2021)11-114-119

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.11.0234

Palmitic Acid Inhibits the Growth, Development and Glucose and Lipid Metabolism of *Drosophila melanogaster*

ZHANG Jiaqi, WU Jinlan, WU Mingjiang, TONG Haibin *

(College of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China)

Abstract: In order to explore whether or not palmitic acid (PA) causes metabolic syndrome, *Drosophila melanogaster* was used as the model organism in this study, corn flour yeast standard medium was used as the control group, and the standard culture medium added with 2.50% PA as the experimental group. The larval body weight, pupation rate and eclosion rate, pupal weight, pupal area, pupal volume, adult body weight, adult crawling ability, adult wing area, and the contents of trehalose, triglycerides, *Dilp2*, *Dilp3* and *Dilp5* of the third instar larvae of *D. melanogaster* were determined. The results showed that compared with CTRL group, PA decreased the pupation rate and eclosion rate of *D. melanogaster* by 3.75% and 10.03%, respectively, with the pupal area and pupal volume of the PA group also decreased. The body weights of female drosophila and male drosophila in the PA group decreased by 0.13 mg and 0.10 mg, respectively, compared with CTRL group. The locomotor activities of female drosophila and male drosophila in the PA group decreased by 41.35% and 22.78%, respectively. For the PA group, the wing area of female drosophila in decreased significantly, but there was no significant change in male drosophila. The contents of trehalose and triglycerides in the PA group increased significantly, while the expressions of *Dilp2*, *Dilp3* and *Dilp5* decreased significantly. The above results indicate that PA inhibited the growth and development of *D. melanogaster* and disrupted the balance of glucose and lipid metabolism in larvae. This study can provide a scientific basis for exploring the mechanism of the metabolic syndrome caused by a high-fat diet.

Key words: palmitic acid; metabolic syndrome; glucose and lipid metabolism; *Drosophila*; growth and development

引文格式:

章嘉淇, 吴进兰, 吴明江, 等. 棕榈酸抑制果蝇幼虫的生长发育及糖脂代谢[J]. 现代食品科技, 2021, 37(11): 114-119, +213

ZHANG Jiaqi, WU Jinlan, WU Mingjiang, et al. Palmitic acid inhibits the growth, development and glucose and lipid metabolism of *Drosophila melanogaster* [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(11): 114-119, +213

收稿日期: 2021-03-06

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (41876197; 81872952); 温州市重大科技创新攻关医疗卫生项目 (ZY2019013)

作者简介: 章嘉淇 (1998-), 女, 硕士, 研究方向: 天然产物开发, E-mail: 1404206553@qq.com

通讯作者: 佟海滨 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物开发, E-mail: tonghaibin@gmail.com

代谢综合征 (Metabolic Syndrome, MS) 是一组以中心性肥胖为基础, 合并高血压、血糖以及血脂代谢异常等多种代谢紊乱的临床综合征^[1], 其被认为是 II 型糖尿病以及心血管等疾病的主要危险因素^[2,3]。由于现代社会生活水平及生活方式的变化, 一方面不合理的膳食结构使得民众高糖高脂食物摄入普遍增加, 另一方面民众出行及生活方式的改变也导致运动量减少, 因此肥胖、糖尿病等代谢综合征患病人群呈现直线上升趋势, 我国人口的患病率已高达 33.90%^[4]。

胰岛素抵抗是代谢综合征发生发展的关键病理基础^[5], 与中心性肥胖密切相关。肥胖患者体内大量的游离脂肪酸 (free fatty acids, FFAs) 会抑制胰岛素对骨骼肌和肝脏等靶器官发挥效应作用, 从而导致胰岛素抵抗的发生^[6]。同时, 高浓度的游离脂肪酸还会导致胰岛 β 细胞凋亡, 从而导致胰岛素分泌绝对不足^[7]。多项研究表明膳食脂肪中不同种类的脂肪酸对胰岛素敏感性的影响不同^[8]。棕榈酸 (palmitate acid, PA) 是人体摄入量最多的脂肪酸之一, 其以甘油酯的形式广泛存在于动植物油脂中^[9]。研究发现 PA 能够诱导骨骼肌、心肌和肝脏细胞等发生胰岛素抵抗^[10], 被认为是致肝细胞脂毒性的主要分子之一^[11]。此外, 有报道高脂饮食会导致神经元中 PA 积累, PA 的过量积累导致大脑胰岛素抵抗和长期增强功能受损, 从而导致大脑记忆功能障碍^[12]。但 PA 对代谢综合征等疾病发生发展的影响尚不清楚。

黑腹果蝇因其在代谢调控通路上与哺乳动物有高度的相似性^[13,14], 是研究代谢性疾病较好的模式生物。因此, 本研究利用黑腹果蝇作为模式生物, 研究 PA 对果蝇生长发育和糖脂代谢的影响, 并进一步探究 PA 与代谢综合征发生发展之间的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

野生型黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) w118, 购自清华果蝇中心。将果蝇培养于人工气候箱, 培养条件为温度 25 °C, 相对湿度 60%, 光照时间 12 h。

1.1.2 实验试剂和仪器

棕榈酸 (PA)、吐温 80: 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 蔗糖、葡萄糖、酵母、无水氯化钙: 生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 总蛋白 (TP)、葡萄糖 (GLU)、甘油三酯 (TG) 检测试剂盒: 深圳市库贝尔生物科技股份有限公司; 对羟基苯甲酸甲酯: 上海达瑞精细化学品有限公司; RNA 提取、反转录试剂: 北京全

市金生物技术有限公司; AL104 电子天平: 梅特勒-托利多国际有限公司; iMagic-V7 全自动生化分析仪: 深圳市库贝尔生物科技股份有限公司; Light Cycler[®]96 荧光定量 PCR 仪: 瑞士罗氏诊断应用科学部; Tissue Lyser II 组织破碎仪: 德国 QIAGEN 生物技术有限公司; SOPTOP SZMN 显微镜: 舜宇光学科技 (集团) 有限公司

1.2 实验方法

1.2.1 培养基的配置

250 mL 培养基中含有蔗糖 8 g、葡萄糖 16 g、玉米粉 20 g、酵母 8 g、琼脂 1.75 g、氯化钙 0.18 g、丙酸 2 mL、对羟基苯甲酸甲酯 0.50 g、吐温-80 2.50 mL、此为实验中的普通 (CTRL 组) 培养基配方。高脂培养基 (PA 组) 的配置方法与普通培养基基本一致, 但需在普通培养基的基础上加入 2.50% 浓度的 PA。

1.2.2 果蝇幼虫生长状态和体重测定

将从果蝇受精卵接种到 CTRL 组和 PA 组培养基中开始计时, 待果蝇生长到 72 h 开始对果蝇幼虫进行体重称量以及拍照记录生长情况, 之后每隔 24 h 重复实验, 直到大部分幼虫结蛹。

1.2.3 蛹面积与蛹体积测定

将毛刷蘸取少量水后刷在蛹上, 小心将其取下摆放在载玻片上, 在显微镜下观察拍摄, 使用 Image J 软件测量蛹面积。使用 Image J 软件测量蛹的长和宽, 根据公式 (1) 计算得到各组蛹体积。

$$V = \frac{4\pi}{3} \times (L/2) \times (W/2)^2 \quad (1)$$

式中:

V ——蛹体积;

L ——蛹的长度;

W ——蛹的宽度。

1.2.4 蛹化率与羽化率测定

成虫蛹化率根据式 (2) 计算得到

$$\text{蛹化率} / \% = \frac{\text{化蛹个数}}{100} \times 100\% \quad (2)$$

成虫羽化率根据式 (3) 计算得到。

$$\text{羽化率} / \% = \frac{\text{羽化后蛹壳个数}}{\text{结蛹总数}} \times 100\% \quad (3)$$

1.2.5 成虫重量、爬行能力以及翅膀面积的测定

成虫重量: 将羽化不超过 8 h 的成年果蝇转移到新培养基中放置 24 h, 用 CO₂ 麻醉后将雌雄果蝇分开放入培养管, 采用分析天平称重后根据式 (4) 计算得到成虫平均体重。

$$\text{平均体重} = \frac{\text{果蝇总质量}}{\text{称重果蝇个数}} \quad (4)$$

爬行测试：先将果蝇放入长度 20 cm 透明空管内，在室温环境下适应 5 min，轻敲透明管，使所有果蝇掉落至管底，对 8 s 内爬过 10 cm 标记线的果蝇数量进行记录，操作每组重复 3 次，每次重复间隔 1 min 作为休息时间。对通过标记线的果蝇根据式(5)计算。

$$\text{爬行能力}/\% = \frac{\text{爬行超过10cm的果蝇个数}}{\text{果蝇总个数}} \times 100\% \quad (5)$$

翅膀面积：随机收集不同培养基的雌雄果蝇成虫各 10 只，分离翅膀，在显微镜下拍照，使用 Image J 软件计算各组果蝇翅膀 D 区的相对面积。

1.2.6 三酰甘油和海藻糖含量测定

取三龄幼虫，加入 0.05% Tween-20 的磷酸盐缓冲液，加入 2 粒 3 mm 不锈钢珠，于高通量研磨仪中研磨 4 min。研磨完成后匀浆于 12000 转离心 5 min，取上清，再于 12000 r/min 下离心 5 min，取上清液 120 μL 于 70 °C 加热 5 min，于生化分析仪中测定 TG、TP。

取三龄幼虫，用针扎破幼虫腹部后离心，离心结束后取 1 μL 血淋巴，加入 50 μL PBS 和 1 μL 海藻糖酶，在 37 °C 下孵育 3 h，之后用生化分析仪测定 GLU。

1.2.7 果蝇幼虫胰岛素样肽测定

表1 qRT-PCR引物设计

Table 1 Designed primer sets for qRT-PCR

Gene	Primer	5'-3'
RP49	sense	GACAGTATCTGATGCCCAACA
	antisense	CTTCTTGGAGGAGACGCCGT
Dilp2	sense	AGCAAGCCTTTGTCTTCATCTC
	antisense	ACACCATACTCAGCACCTCGTTG
Dilp3	sense	AAGCTCTGTGTGTATGGCTT
	antisense	AGCACAATATCTCAGCACCT
Dilp5	sense	GAGGCACCTTGGGCCTATTC
	antisense	CATGTGGTGAGATTTCGGAGCTA

收集 CTRL 组和 PA 组三龄幼虫样品，每组 3 个生物样品重复，每个样品 7 只幼虫，Trizol 试剂参照常规步骤提取 mRNA，反转录得 cDNA。以 RP49 作为内参基因，荧光实时定量 PCR 测量胰岛素样肽 Dilp2、Dilp3、Dilp5 等基因的表达情况。

1.3 统计学分析

采用 GraphPad Prism 8.4 进行统计学分析，组间差异采用 t 检验分析 (* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001)。本研究中的试验结果至少重复 3 次独立实验。

2 结果与讨论

2.1 PA 影响果蝇幼虫的生长发育

为了探究 PA 对果蝇幼虫生长发育的影响，本实验记录了自 72 h 起，每隔 24 h 果蝇幼虫的形态变化情况。如图 1 所示，在 72 h~120 h 时，PA 组和 CTRL 组果蝇幼虫形态无明显差异。至 144 h 时，CTRL 组果蝇幼虫已出现白蛹，即结蛹早期的形态，而 PA 组大部分还处于三龄幼虫后期阶段，生长发育稍滞后于 CTRL 组。在 168 h 时 CTRL 组幼虫大部分已成棕褐色蛹，而 PA 组大多还处于蛹的早期，蛹颜色较淡，直到 192 h 时 PA 组大部分幼虫才发育成棕褐色的蛹。上述结果表明，PA 处理会导致果蝇幼虫生长发育滞后。

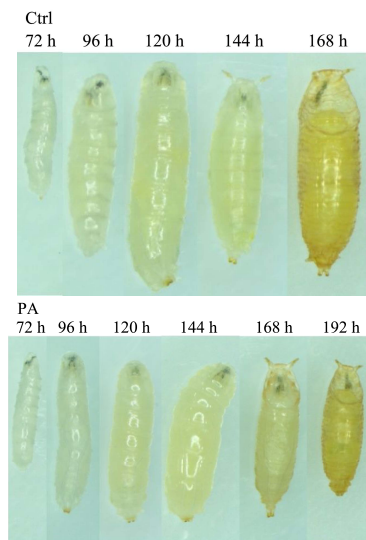


图 1 PA 对果蝇幼虫生长状态和速度的影响

Fig.1 Effects of PA on the growth state and speed of drosophila larvae

由图 2d 可见，在 72 h~120 h 时 PA 组和 CTRL 组幼虫体重无明显差异。蛹重如图 2a 所示，CTRL 组果蝇平均蛹重为 1.26 mg，而 PA 组果蝇平均蛹重为 1.09 mg，明显低于 CTRL 组 (p<0.05)。CTRL 组蛹面积为 2.23 mm²，蛹体积为 1.26 mm³，而 PA 组的蛹面积和蛹体积都有所下降，分别为 2.05 mm² 和 1.13 mm³ (图 2b、2c)。

果蝇的生长发育经历卵、幼虫、蛹、成虫 4 个阶段，羽化率和蛹化率是衡量果蝇发育是否正常的重要指标。如图 2e、2f 所示，CTRL 组和 PA 组果蝇蛹化率在 144 h 时差异最大，分别为 37.50% 和 22.50%。最终蛹化率 CTRL 组为 65%，PA 组为 61.25%。CTRL 组和 PA 组羽化率在 240 h 时相差最大，分别为 51.70% 和 24.40%。最终羽化率 CTRL 组为 93.27%，PA 组为 83.24%。由此可知，PA 组蛹化率和羽化率均低于 CTRL 组，部分幼虫蛹化后未能羽化，表明 PA 影响果蝇三龄幼虫后期生长发育，降低蛹化率和羽化率，部分幼虫出现蛹期死亡情况。

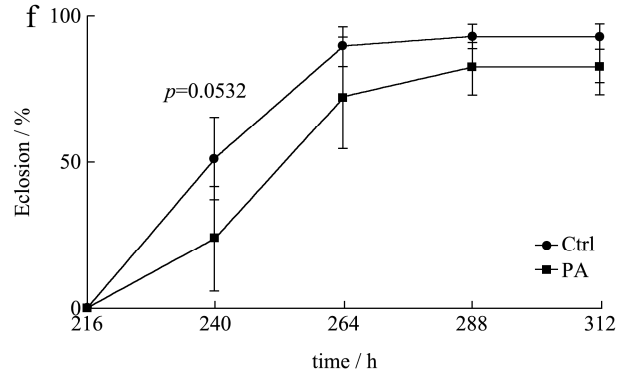
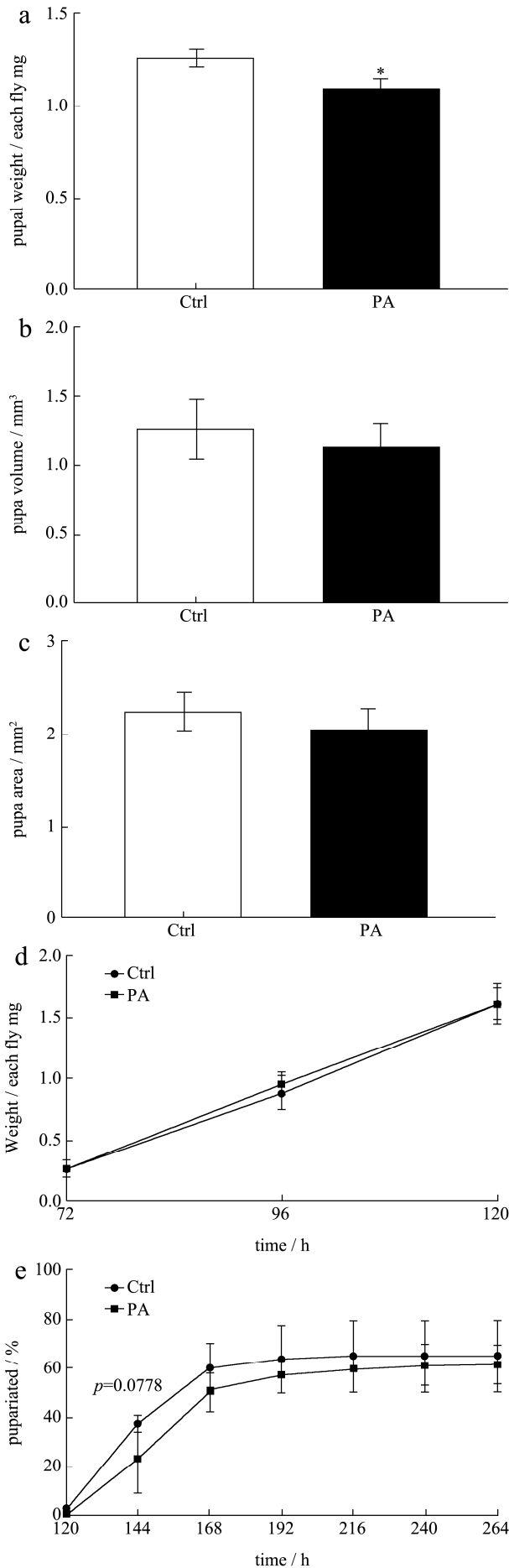


图 2 PA 对果蝇幼虫生长发育的影响

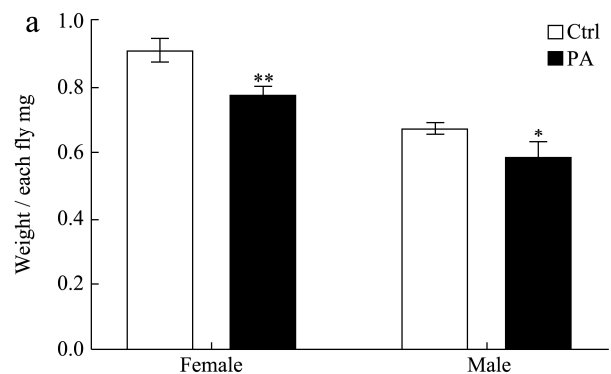
Fig.2 Effects of PA on the growth and development of drosophila larvae

注: (a) 蛹重; (b) 蛹体积; (c) 蛹面积; (d) 果蝇幼虫体重; (e) 蛹化率; (f) 羽化率。

2.2 PA 影响果蝇成虫个体大小和爬行能力

为了进一步探究 PA 摄入对果蝇发育的影响, 本研究分别检测了雌雄果蝇成虫的体重以及翅膀 D 区面积的大小。如图 3a, PA 组雌蝇体重为 0.78 mg, 雄蝇为 0.58 mg, 而 CTRL 组雌蝇和雄蝇体重分别为 0.91 mg 和 0.68 mg, PA 组雌蝇和雄蝇的体重均显著低于 CTRL 组 ($p<0.01$, $p<0.05$)。PA 组雌性果蝇 D 区翅膀面积相比于 CTRL 组显著减少 (图 3c, $p<0.001$), 而雄性果蝇无差异 (图 3d)。上述结果表明 PA 对雌性果蝇的翅膀发育影响较大, 而对雄性果蝇翅膀未见显著影响。

为了探究 PA 降低的果蝇体重是否伴随着运动活性的改变, 本实验测量了成虫的爬行能力。如图 3b 所示, PA 组果蝇的活跃度低于 CTRL 组, 雌蝇和雄蝇的爬行能力分别降低了 41.35% 和 22.78%。白野等^[15]通过在果蝇培养基中添加 30% 的猪油, 发现果蝇羽化率与对照组比较降低了 42%, 雌雄成虫体重与对照组相比分别显著增加了 35.40% 和 17.40% ($p<0.05$)。雄果蝇的爬行能力显著下降, 与对照组相比下降了 23.30% ($p<0.01$), 这与本研究中果蝇羽化率降低和运动能力减弱的结果一致, 而本研究发现 PA 处理导致成虫体重减小。



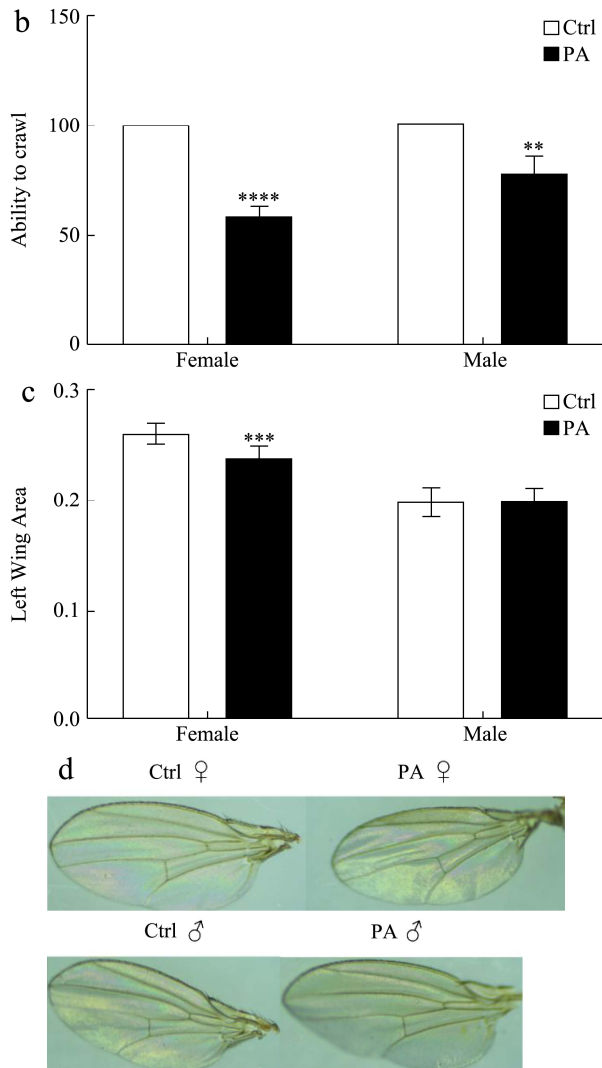


图3 PA对果蝇成虫生长发育的影响

Fig.3 Effects of PA on the growth and development of adult *Drosophila*

注: (a) 成虫体重; (b) 爬行能力; (c) 果蝇左翅翅膀D区相对面积; (d) 果蝇左翅翅膀图。

2.3 PA 导致果蝇糖脂代谢紊乱

海藻糖是果蝇血淋巴中循环糖的主要成分, 其含量可反映果蝇整体血糖水平^[16]。昆虫脂类代谢进程与哺乳动物类似, 如果长期摄入过量脂肪酸, 就会导致代谢紊乱, 脂肪积累过多时则会对器官产生脂毒性^[17]。如图4a、4b所示, PA组三龄幼虫血淋巴中海藻糖和TG含量均显著高于CTRL组 ($p < 0.05$)。

与哺乳动物利用胰岛素调控血糖类似, 果蝇通过体内类似胰岛素的物质-果蝇胰岛素样肽 (*Drosophila insulin-like peptides*, DILPs) 来调控糖稳态。在果蝇8种DILPs中, DILP2、DILP3、DILP5与哺乳动物胰岛素最为相似, 尤其是DILP2, 其与人类的胰岛素功能极为接近^[18]。在脂代谢方面, DILPs可以促进脂肪的合

成, 使血淋巴中游离脂肪酸减少, 而DILPs缺乏可造成脂代谢紊乱, 脂肪贮存减少, 分解加强, 血脂升高^[19]。如图4c所示, 与CTRL组相比, PA组幼虫体内*Dilp2*、*Dilp3*、*Dilp5*基因的表达均呈现显著性下调 ($p < 0.01$), 而DILPs分泌不足会导致果蝇体内糖脂代谢紊乱, 这与研究中TG和海藻糖含量显著性升高一致。过量摄入PA会导致脂肪酸大量积累, 也会对果蝇器官产生脂毒性, 损伤胰岛素生成细胞^[20]。Heinrichsen等^[21]通过添加20%的椰子油培育出“肥胖”果蝇, 发现其体内TG和血糖水平显著升高, 这与本研究中TG和海藻糖含量升高结果相似。Birse等^[22]发现饲喂含30%椰子油的高脂饲料可以复制果蝇成虫糖尿病模型, 果蝇体内TG和血糖含量升高, 产生胰岛素抵抗, 其可能机制是由于TOR信号通路抑制了三酰甘油酯酶 (*bmm*) 的产生, 同时促进了脂肪酸合成酶的表达。

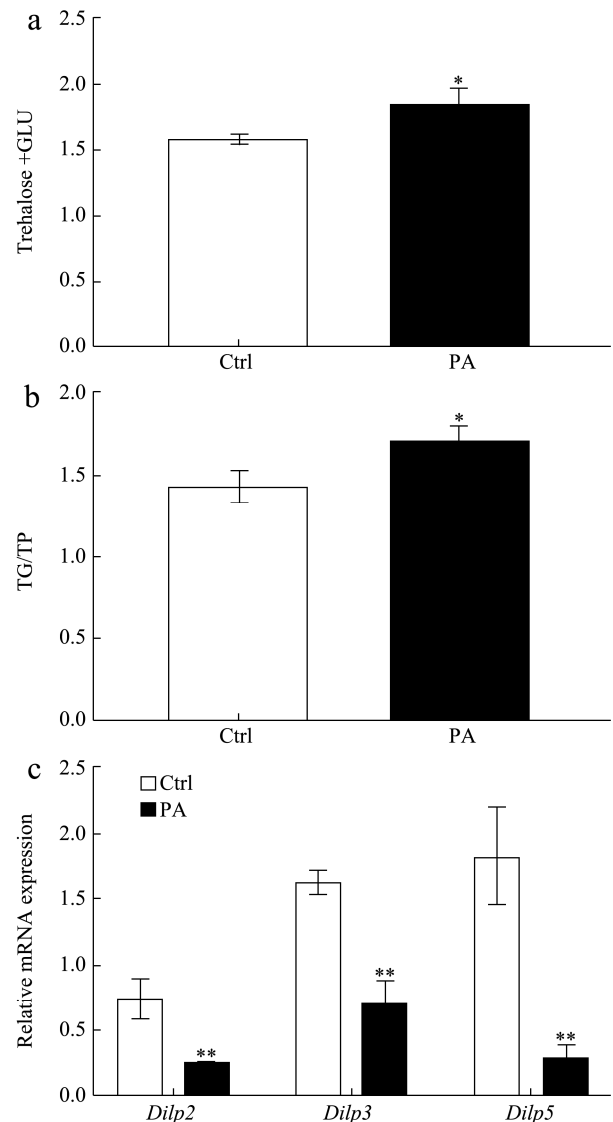


图4 PA对果蝇糖脂代谢的影响

Fig.4 Effects of PA on glucose and lipid metabolism in *Drosophila*

注: (a) 海藻糖水平; (b) 甘油三酯水平; (c) *Dilp2*、*Dilp3*、*Dilp5* 水平。

3 结论

本研究采用含 2.50%浓度的 PA 培养基喂食果蝇, 研究 PA 对果蝇幼虫体重、蛹化率与羽化率、蛹重、蛹面积、蛹体积、成虫体重、成虫爬行能力、成虫翅膀面积大小以及三龄幼虫体内海藻糖、甘油三酯、胰岛素样肽 *Dilp2*、*Dilp3*、*Dilp5* 含量的影响。结果表明: 相比于 CTRL 组, PA 导致果蝇的蛹化率及羽化率分别降低了 3.75%和 10.03%, 蛹面积和蛹体积有所下降。PA 组雌性成虫体重与 CTRL 组相比减小了 0.13 mg, 雄性成虫体重减少了 0.10 mg。PA 组雌蝇的运动活性降低了 41.35%, 雄蝇降低了 22.78%。PA 组雌性果蝇翅膀面积明显减小, 而雄性果蝇无明显差异。PA 组幼虫海藻糖和甘油三酯含量明显升高, 而 *Dilp2*、*Dilp3*、*Dilp5* 的表达量显著下降。以上结果表明 PA 抑制果蝇的生长发育, 扰乱了幼虫的糖脂代谢平衡。同时, 本实验中 PA 处理组的果蝇在幼虫时期生长发育异常, 三龄幼虫体内海藻糖和甘油三酯含量偏高, 这与儿童及青少年由于不健康的饮食结构摄入大量高脂食物导致机体血糖升高、脂质失调, 引发肥胖、胰岛素抵抗并最终导致 2 型糖尿病等慢性代谢疾病的发病机制相似。因此, 研究 PA 导致果蝇幼虫生长发育异常和糖脂代谢紊乱的机制, 可以为高脂饮食导致的儿童肥胖等代谢综合征提供科学依据。

参考文献

- [1] Lu J, Wang L, Li M, et al. Metabolic syndrome among adults in china:the 2010 china noncommunicable disease surveillance [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(2): 507-515
- [2] Nolan C J, Prentki M. Insulin resistance and insulin hypersecretion in the metabolic syndrome and type 2 diabetes: time for a conceptual framework shift [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2019, 16(2): 118-127
- [3] El Bilbeisi A H, Hosseini S, Djafarian K. The association between physical activity and the metabolic syndrome among type 2 diabetes patients in Gaza strip, Palestine [J]. *Ethiop J Health Sci*, 2017, 27(3): 273-282
- [4] 徐蓉,姚洁,龚开政,等.代谢综合征危险因素及防治进展 [J]. *医学综述*,2018,24(23):4716-4720,4725
XU Rong, YAO Jie, GONG Kaizheng, et al. Progress in risk factors of metabolic syndrome and its prevention and treatment [J]. *Medical Recapitulate*, 2018, 24(23): 4716-4720, 4725
- [5] 姜雯.中医药防治代谢综合征胰岛素抵抗的研究进展[J].*世界中西医结合杂志*,2019,14(7):1028-1032
JIANG Wen. Progression of the study on insulin resistance of metabolic syndrome in prevention and treatment with Chinese medicine [J]. *World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2019, 14(7): 1028-1032
- [6] 陈晶,李璟.糖尿病细胞模型及研究进展[J].*临床与病理杂志*,2016,36(4):507-514
CHEN Jing, LI Jing. Advances in establishment of cell culture models of diabetes mellitus [J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2016, 36(4): 507-514
- [7] 茅小燕,张爱珍.膳食脂肪、胰岛素抵抗与代谢综合征[J].*国外医学(卫生学分册)*,2006,2:73-77
MAO Xiao-yan, ZHANG Aizhen. Dietary fat, insulin resistance and metabolic syndrome [J]. *Journal of Environmental Hygiene*, 2006, 2: 73-77
- [8] Chen L, Chen X W, Huang X, et al. Regulation of glucose and lipid metabolism in health and disease [J]. *Sci China Life Sci*, 2019, 62(11): 1420-1458
- [9] Pardo V, González-Rodríguez Á, Muntané J, et al. Role of hepatocyte S6K1 in palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress, lipotoxicity, insulin resistance and in oleic acid-induced protection [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 80: 298-309
- [10] Talukder M A, Preda M, Ryzhova L, et al. Heterozygous caveolin-3 mice show increased susceptibility to palmitate-induced insulin resistance [J]. *Physiol Rep*, 2016, 4(6): e12736
- [11] Poirout V, Robertson R P. Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction [J]. *Endocr Rev*, 2008, 29(3): 351-66
- [12] Jo D, Yoon G, Song J. Role of exendin-4 in brain insulin resistance, mitochondrial function, and neurite outgrowth in neurons under palmitic acid-induced oxidative stress [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(1): 78
- [13] Inoue Y H, Katsube H, Hinami Y. Drosophila models to investigate insulin action and mechanisms underlying human diabetes mellitus [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1076: 235-256
- [14] Mattila J, Hietakangas V. Regulation of carbohydrate energy metabolism in *Drosophila melanogaster* [J]. *Genetics*, 2017, 207(4): 1231-1253

(下转第 213 页)