

# 消脂汤对非酒精性脂肪性肝病模型大鼠治疗的作用及机制

杨道炬<sup>1</sup>, 李常青<sup>1</sup>, 廖向彬<sup>1</sup>, 袁冬生<sup>2\*</sup>

(1. 广州中医药大学热带医学研究所, 广州 510405; 2. 广州中医药大学职业技术学院, 广州 510405)

**[摘要]** 目的: 观察消脂汤对非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 模型大鼠的治疗作用, 并探讨其机制。方法: 62 只雄性 SPF 级 SD 大鼠, 随机分为造模组 (51 只) 和正常组 (11 只)。采用高脂饮食法复制大鼠 NAFLD 模型, 造模成功后随机均匀分为模型组、非诺贝特组 ( $0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )、消脂汤高、中、低剂量组 ( $42.5, 21.5, 10.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )。消脂汤组和非诺贝特组灌喂相应药物, 正常组和模型组灌喂等体积生理盐水。4 周后处死动物, 全自动生化仪检测空腹血糖 (FBG)、总胆固醇 (TG)、甘油三酯 (TC)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、谷氨酰胺转氨酶 (GGT)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、游离脂肪酸 (FFA), 放射免疫法检测胰岛素 (INS), 计算胰岛素抵抗指数 (HOMAR-IR), HE 染色观察肝脏病理变化。RT-PCR 方法检测肝组织固醇调节元件结合蛋白 (SREBP-1c) mRNA 的表达水平; Western blot 方法检测肝组织 SREBP-1c 的蛋白表达水平。结果: 与正常组比较, 模型组血脂, 肝脂, FFA, FINS, HOMAR-IR, MDA, SREBP-1c mRNA 及蛋白表达显著升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); SOD 含量显著下降 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 各治疗组血脂, 肝功, 肝脂, FFA, FINS, HOMAR-IR, MDA, SREBP-1c mRNA 及蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 以消脂汤高剂量组尤为显著 ( $P < 0.01$ ); SOD 含量显著升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结论: 消脂汤能显著改善 NAFLD 的胰岛素抵抗和氧化应激, 减轻肝脏脂肪蓄积和炎症反应, 下调 SREBP-1c mRNA 和蛋白表达是其减轻肝脏脂肪蓄积的可能机制之一。

**[关键词]** 非酒精性脂肪性肝病; 消脂汤; 固醇调节元件结合蛋白-1c

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)18-0159-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014180159

## Effects of Xiaozhi Decoction on SREBP-1c mRNA and Protein Expression in Hepatic Tissues of Rats with Non-alcoholic Fatty Liver Disease

YANG Dao-ju<sup>1</sup>, LI Chang-qing<sup>1</sup>, LIAO Xiang-bin<sup>1</sup>, YUAN Dong-sheng<sup>2\*</sup>

(1. Institute of Tropical Medicine of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. Vocational Technology College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**[收稿日期]** 20140409(018)

**[第一作者]** 杨道炬, 硕士研究生, 从事中医药治疗肝病的基础与临床研究, Tel: 020-36585419, E-mail: daojuyang@163.com

**[通讯作者]** \*袁冬生, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事中医药治疗肝病的基础与临床研究, Tel: 020-36585520, E-mail: ydshy@21cn.com

### [参考文献]

- [1] 王爱武, 刘娅, 雒琪, 等. 独活寄生汤抗炎、镇痛作用的药理学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(12): 61.
- [2] 段径云. 独活寄生汤抗炎免疫药理作用研究 [J]. 中成药研究, 1988, 10(5): 28.
- [3] 朱自平. 独活寄生汤对微循环的影响 [J]. 中成药, 1991, 13(3): 26.
- [4] 王爱武, 刘娅, 林晓燕, 等. 独活寄生汤及其配方颗粒对胶原诱导型关节炎大鼠滑膜组织病理学变化的影响 [J]. 中国中医药科技, 2010, 17(3): 202.
- [5] Shou J, Bull C M, Li L, et al. Identification of blood

- biomarkers of rheumatoid arthritis by transcript profiling of peripheral blood mononuclear cells from the rat collagen arthritis model [J]. Arthritis Rds Ther, 2006, 8: R28.
- [6] Bajtner E, Nandakumar K S, Engstrom A, et al. Chronic development of collagen-induced arthritis is associated with arthritogenic antibodies against specific epitopes on type II collagen [J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7: 1148.
- [7] 张玲玲, 沈玉先, 魏伟. 类风湿关节炎动物模型与临床的关系 [J]. 中国药理学通报, 2002, 18(5): 502.
- [8] 李培培, 解国雄, 宋珊珊, 等. 大鼠佐剂性关节炎模型表现特征及评价指标 [J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(5): 453.

[责任编辑 周冰冰]

**[ Abstract ] Objective:** To observe the effects of Xiaozhi decoction on sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) mRNA and SREBP-1c protein expression levels in hepatic tissue of rats with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and to explore the molecular mechanism. **Method:** NAFLD model was established by feeding high fat diet for 8 weeks. Then model rats were randomly divided into 5 groups: model group, fenofibrate group, Xiaozhi decoction group (high-dose group, dose group, low-dose group), and additional normal control group. All rats were given normal diet. Meanwhile, rats in medication groups were fed with corresponding herbs, others were fed with corresponding NS. Four weeks after the treatment, all rats were anesthetized by 3% pentobarbital sodium through intraperitoneal injection. total cholesterol (TC), triglyceride (TG) content in liver tissue and TC, TG, glutamine transpeptidase (GGT), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), content in the serum was detected by automatic biochemical analyzer. The pathological changes of hepatic tissue were observed by HE staining. The sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) mRNA expression levels in liver tissue was examined by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The SREBP-1c protein expression levels in hepatic tissue was examined by western blot. **Result:** Compared with normal group, blood lipid, liver fat, free fatty acid (FFA), insulin (INS), insulin resistance index (HOMAR-IR), malondialdehyde (MDA), the SREBP-1c mRNA and protein expression was significantly increased in model group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); superoxide dismutase (SOD) content decreased significantly ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the hepatic Steatosis degree was alleviated obviously in the Xiaozhi decoction-high-dose group. TC, TG, AST, ALT, GGT content in serum, and TC, TG content in liver tissue were dramatically declined ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The SREBP-1c mRNA and protein in treatment groups was down-regulated ( $P < 0.01$ ), especially in the Xiaozhi decoction-high-dose group, whose expression was much lower compared with model group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Xiaozhi decoction showed certain therapeutic effect on NAFLD, which might be linked to down-regulating SREBP-1c mRNA and protein expression.

**[ Key words ]** non-alcoholic fatty liver disease; Xiaozhi decoction; sterol regulatory element-binding protein-1c

非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是世界上最常见的慢性肝病, 调查显示, 普通成年人中 NAFLD 的患病率为 30%, 在糖尿病和肥胖人群中的患病率高达 60% ~ 70%<sup>[1]</sup>。近年来, 随着我国居民饮食、生活环境的改变, 健康意识的提高及检测手段的进步, 其发病率及检出率日益增高, 并呈现低龄化趋势, 在我国已成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病<sup>[2]</sup>, 预计到 2020 年将成为肝移植的主要原因<sup>[3]</sup>。

目前, 唯一有效治疗 NAFLD 的方法是热量限制和减肥<sup>[4]</sup>, 但减肥并不能减轻脂肪蓄积对肝脏的损伤<sup>[5]</sup>。很多文献报道中药复方对 NAFLD 有显著的疗效<sup>[6]</sup>。消脂汤是基于传统中医理论拟定的中药复方, 长期的临床经验表明其对 NAFLD 具有显著的疗效, 但其治疗 NAFLD 的作用机制尚不清楚。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 大鼠 62 只, 雄性, 体重 (200 ± 20) g, 由广州中医药大学实验动物中心提供, 动物许可证号 SCXK (粤) 2008-0020, 实验方案

获得广州中医药大学实验动物伦理委员会审查通过。

**1.2 受试药物** 消脂汤 (专利号: 中国, 201110416602.1): 山楂 30 g, 何首乌 20 g, 决明子 20 g, 丹参 30 g, 虎杖 15 g, 白术 15 g, 泽泻 15 g, 柴胡 10 g。中药饮片由广州中医药大学第一附属医院提供, 药材来源于广东药材公司中药饮片厂 (批号 33562211), 符合《中国药典》的饮片标准。煎剂由广州中医药大学热带医学研究所药物分析室提供, 后被浓缩制成 3.0 g·mL<sup>-1</sup> 的水煎剂, 置 4 °C 冰箱保存备用。非诺贝特胶囊 (法国利博福尼制药公司, 批号 18753), 使用时用生理盐水配成 2 g·L<sup>-1</sup> 混悬液。

**1.3 高脂饲料** 基础饲料 + 1% 胆固醇 + 10% 猪油 + 10% 蛋黄粉 + 2% 胆盐, 由广东省医学实验动物中心提供 [许可证号 SCXK (粤) 2008-0002]。高脂乳剂 30% 猪油 + 30% 花生油 + 20% 胆固醇 + 3% 胆盐, 自制。(方法: 取 30 g 猪油和 30 g 花生油置于 500 mL 烧杯中, 加入 20 g 胆固醇, 加热溶解, 再加入 3 g 胆盐和 30 mL 吐温-80, 30 mL 丙二醇, 90 mL 蒸馏水, 充

分搅匀,即成。冰箱保存,用时水浴加热溶解)。

**1.4 实验条件** 大鼠分为6组。室温15~20℃,湿度60%~70%。所有试验大鼠适应性喂养1周后,空白对照组普通饲料喂养,模型组高脂饲料喂养,同时灌胃高脂乳剂,实验开始1~4周乳剂灌胃剂量按2.5,5,7.5,10 mL·kg<sup>-1</sup>每周递增,后4周持续10 mL·kg<sup>-1</sup>。自由饮水。

**1.5 试剂** 大鼠葡萄糖(GLU)测定试剂盒(批号20130322),总胆固醇(TC)测定试剂盒(批号20130512),甘油三酯(TG)测定试剂盒(批号20130522),丙氨酸转氨酶(ALT)测定试剂盒,天冬氨酸转氨酶测定试剂盒(AST),谷酰胺转氨酶(GGT)测定试剂盒(批号20130442),均由上海科华生物工程股份有限公司提供。丙二醛(MDA)测定试剂盒(批号20130724),超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒(批号20130716),游离脂肪酸(FFA)测定试剂盒(批号20130730),胰岛素(INS)测定试剂盒(批号20130311),均由南京建成生物工程研究所提供。胆盐(批号3202014),胆固醇(批号2102013)广东环凯微生物科技有限公司提供;吐温-80(批号120910),丙二醇(130112)均由天津市科密欧化学试剂有限公司提供。

**1.6 仪器** 全自动生化仪[EHO意大利(乐高特)仪器公司],多功能酶标仪(瑞士Tecan公司);DIAxgoo型匀浆机(德国Heidolph公司),Forma-80℃超低温冰箱(美国Thermo Scientific公司)。

**1.7 引物设计** Genbank中查找大鼠SRBP-1C GAPDH基因序列,用Primer 5.0软件系统对引物进行设计和评价,由广州莱德尔生物科技有限公司合成,引物序列见表1。

表1 RT-PCR引物序列

基因	引物序列(5'-3')	产物长度 /bp
SRBP-1C	For:CCACCCTGTAGGTCACCGTT	147
	Rev:GCTCGCTCCAGGAGATGTTT	
GAPDH	For:GAATTCACAGTAAGTGGGGTCATA	105
	Rev:CGAGGGCCTCACTAAACCATC	

注:反应体系中使用各引物浓度为20 μmol·L<sup>-1</sup>。

## 2 方法

**2.1 动物处理** 62只SD大鼠采用随机数字表法选取11只为正常组,其余51只为模型组。按上述方法喂养8周后,从正常组和模型组中各随机选取1只处死,眼眶取血检测TG,ALT,AST;取肝组织制

作病理切片,表明造模成功后改为普通饲料喂养。模型组随机分为5组:即模型组、消脂汤组(42.5,21.5,10.6 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、非诺贝特对照组。实验组给予药物灌胃,用量参照文献[6]。正常组与模型组每天灌胃等体积生理盐水1次,连续4周。

**2.2 标本采取** 处死动物前12h禁食不禁水,腹主动脉采血,全自动生化分析仪检测血清TC,TG,ALT,AST,GGT,FBG;放射免疫法检测FINS;酶联免疫法检测SOD,MDA,用稳态模型HOMA,计算HOMA-IR,以评价IR程度(HOMA-IR = FBG × FINS/22.5)。剖开腹腔,暴露肝脏,从肝左中叶取肝脏组织,迅速投入10%甲醛溶液固定,常规制备病理组织切片,HE染色。

**2.3 肝组织病理学检测及评价** 由广州中医药大学第一附属医院病理科进行石蜡HE切片染色制作并对病理切片进行评价。

**2.4 肝组织SREBP-1c mRNA及蛋白的表达** 取同一部位肝脏100 mg,RT-PCR方法检测肝组织SREBP-1c mRNA的表达,利用ABI公司自带的PCR系统软件分析,观察扩增曲线,计算样本ΔΔCt,以ΔΔCt值的负数为指数计算2<sup>-ΔΔCt</sup>,并进行比较;Western blot方法检测肝组织SREBP-1c的蛋白表达水平,使用Quantity One软件对条带进行扫描定量分析[以平均吸光度(A)表示],以GAPDH为内源性参照,计算SREBP-1c的蛋白表达量,并进行统计分析。

**2.5 统计学处理** 采用SPSS 18.0软件包,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行多组数据计量资料单因素方差分析,P<0.05表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 一般情况** 正常组大鼠毛发有光泽,运动活泼,食量排泄物均正常。模型组大鼠毛发粗糙色泽暗淡,呈暗黄色,活动稍减少,排泄物浊腻;非诺贝特组毛发正常,活动尚可;消脂汤高、中剂量组毛发正常,柔顺;消脂汤低剂量组毛发稍粗糙毛色淡黄少光泽。各给药组进食量正常,排泄物黄腻,成形,呈黄褐色。

**3.2 肝脂及血脂比较** 给药12周后,模型组较空白组大鼠血清及肝组织中TC,TG含量均升高;与模型组比较,各治疗组均降低血清中TC和TG含量,但降低TG含量作用较弱。见表2。

**3.3 肝功能比较** 与空白组相比,模型组大鼠血清ALT,AST,GGT含量明显升高(P<0.01);与模型组比较,各给药组大鼠血清ALT,AST和GGT含量明显降低,且呈现出剂量依赖性。见表3。

表 2 消脂汤对大鼠血脂及肝脂的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	血清/mmol·L <sup>-1</sup>		肝匀浆/mmol·L <sup>-1</sup>	
		TC	TG	TC	TG
空白	-	1.16 ± 0.23 <sup>2)</sup>	0.52 ± 0.12 <sup>2)</sup>	0.30 ± 0.08 <sup>1)</sup>	0.55 ± 0.13 <sup>1)</sup>
模型	-	2.02 ± 0.28	1.80 ± 0.49	0.57 ± 0.14	0.81 ± 0.20
非诺贝特	0.05	1.18 ± 0.37 <sup>2)</sup>	0.53 ± 0.16 <sup>2)</sup>	0.36 ± 0.15 <sup>1)</sup>	0.58 ± 0.14 <sup>1)</sup>
消脂汤	42.5	1.19 ± 0.45 <sup>1)</sup>	0.54 ± 0.13 <sup>1)</sup>	0.34 ± 0.16 <sup>1)</sup>	0.59 ± 0.11 <sup>1)</sup>
	21.5	1.24 ± 0.30 <sup>1)</sup>	0.68 ± 0.20 <sup>1)</sup>	0.35 ± 0.11 <sup>1)</sup>	0.70 ± 0.13 <sup>1)</sup>
	10.6	1.33 ± 0.30 <sup>1)</sup>	0.72 ± 0.35	0.36 ± 0.10 <sup>1)</sup>	0.73 ± 0.13

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 3~6 同)。

表 3 消脂汤对大鼠肝损伤程度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ALT/U·L <sup>-1</sup>	AST/U·L <sup>-1</sup>	GGT/U·L <sup>-1</sup>
空白	-	21.99 ± 3.76 <sup>2)</sup>	33.48 ± 2.65 <sup>2)</sup>	1.98 ± 0.29 <sup>2)</sup>
模型	-	60.32 ± 3.57	64.80 ± 2.43	4.37 ± 0.59
非诺贝特	0.05	52.74 ± 2.51 <sup>2)</sup>	54.47 ± 1.46 <sup>1)</sup>	2.47 ± 0.25
消脂汤	42.5	27.86 ± 3.56 <sup>2)</sup>	38.87 ± 2.42 <sup>1)</sup>	1.97 ± 0.22 <sup>2)</sup>
	21.5	39.5 ± 3.45 <sup>2)</sup>	45.28 ± 2.14 <sup>1)</sup>	2.10 ± 0.25 <sup>2)</sup>
	10.6	44.65 ± 3.41 <sup>2)</sup>	53.27 ± 1.74 <sup>1)</sup>	2.11 ± 0.30 <sup>1)</sup>

**3.4 IR 程度及血清 FFA 的比较** 与空白组相比,模型组大鼠 FBG, FINS 和 HOMA-IR 值明显升高 ( $P < 0.01$ ), FFA 水平亦显著升高 ( $P < 0.01$ ); 各治疗组大鼠 FBG, FINS, HOMA-IR 值和 FFA 与模型组相比明显降低 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

**3.5 氧化应激情况比较** 与空白组比较,模型组肝脏和血清中 MDA 含量明显升高, SOD 活力明显降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较,各药物治疗组肝组织中 MDA 含量明显降低,非诺贝特组和消脂汤高、中剂量组中血清和肝组织中 SOD 活力明显升高。见表 5。

表 4 消脂汤对各组大鼠 IR 程度及血清 FFA 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	FBG/mmol·L <sup>-1</sup>	FINS/mU·L <sup>-1</sup>	HOMAR-IR	FFA/mU·L <sup>-1</sup>
空白	-	5.12 ± 0.77 <sup>2)</sup>	18.68 ± 0.89 <sup>2)</sup>	4.68 ± 0.43 <sup>2)</sup>	113.41 ± 18.10 <sup>2)</sup>
模型	-	7.70 ± 0.61	23.74 ± 1.73	7.06 ± 0.51	533.33 ± 16.10
非诺贝特	0.05	7.26 ± 0.45 <sup>1)</sup>	20.14 ± 0.66 <sup>2)</sup>	6.47 ± 0.86 <sup>2)</sup>	320.37 ± 15.90 <sup>1)</sup>
消脂汤	42.5	5.65 ± 0.99 <sup>2)</sup>	18.95 ± 0.53 <sup>2)</sup>	4.57 ± 0.70 <sup>2)</sup>	51.19 ± 16.04 <sup>1)</sup>
	21.5	5.71 ± 0.45 <sup>1)</sup>	19.06 ± 0.97 <sup>2)</sup>	4.66 ± 0.25 <sup>2)</sup>	132.59 ± 18.74 <sup>1)</sup>
	10.6	5.87 ± 0.74 <sup>1)</sup>	20.44 ± 0.66 <sup>2)</sup>	5.04 ± 0.28 <sup>2)</sup>	255.56 ± 17.06 <sup>1)</sup>

表 5 消脂汤对大鼠氧化应激程度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

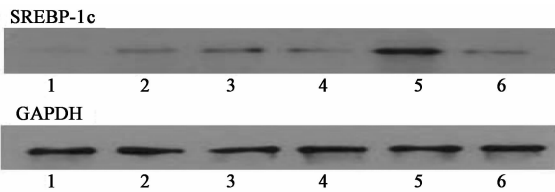
组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	血清		肝匀浆	
		SOD/U·mL <sup>-1</sup>	MDA/nmol·L <sup>-1</sup>	SOD/U·mL <sup>-1</sup>	MDA/nmol·L <sup>-1</sup>
空白	-	291.43 ± 11.25 <sup>2)</sup>	1.26 ± 0.23 <sup>2)</sup>	307.00 ± 10.07 <sup>2)</sup>	3.67 ± 0.25 <sup>2)</sup>
模型	-	222.50 ± 5.90	3.84 ± 0.22	184.20 ± 5.36	6.00 ± 0.51
非诺贝特	0.05	266.60 ± 16.57 <sup>2)</sup>	4.26 ± 0.10 <sup>2)</sup>	250.60 ± 8.64 <sup>2)</sup>	3.98 ± 0.31
消脂汤	42.5	306.00 ± 14.56	3.20 ± 0.29 <sup>2)</sup>	301.20 ± 9.12 <sup>2)</sup>	4.45 ± 0.12 <sup>1)</sup>
	21.5	283.75 ± 6.89 <sup>1)</sup>	3.92 ± 0.16 <sup>2)</sup>	268.00 ± 10.27 <sup>1)</sup>	4.11 ± 0.17 <sup>3)</sup>
	10.6	259.43 ± 17.70 <sup>1)</sup>	4.33 ± 0.18 <sup>2)</sup>	232.80 ± 5.49	4.09 ± 0.25

**3.6 肝组织 SREBP-1c mRNA 表达** 与模型组比较,消脂汤高、中剂量组大鼠肝组织 SREBP-1c mRNA 表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ );消脂汤低剂量组及非诺贝特组表达水平有所降低,但无统计学意义。见表 6。

**表 6 各组肝组织 SREBP-1c mRNA 相对表达量的比较** ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

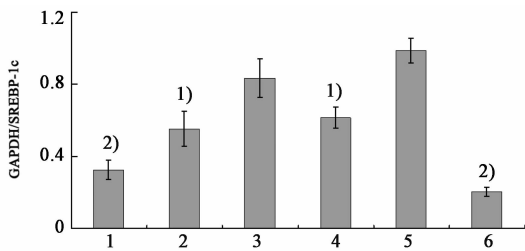
组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SREBP-1C/2 <sup>-<math>\Delta\Delta\text{ct}</math></sup>
空白	-	1.00 $\pm$ 0.02 <sup>1)</sup>
模型	-	2.76 $\pm$ 0.10
非诺贝特	0.05	1.84 $\pm$ 0.08
消脂汤	42.5	1.22 $\pm$ 0.06 <sup>1)</sup>
	21.5	1.43 $\pm$ 0.06 <sup>1)</sup>
	10.6	2.31 $\pm$ 0.08

**3.7 肝组织 SREBP-1c 蛋白表达** 与空白组比较,模型组 SREBP-1c 蛋白表达量明显升高;消脂汤高、中剂量组 SREBP-1c 蛋白表达量明显降低,消脂汤低剂量组 SREBP-1c 蛋白表达量降低不明显;非诺贝特组 SREBP-1c 蛋白表达量降低。见图 1,2。



1. 消脂汤 42.5  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; 2. 消脂汤 21.5  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组;
3. 消脂汤 10.6  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; 4. 非诺贝特组 0.05  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组;
5. 模型组; 6. 空白组(图 2 同)

**图 1 Western blot 检测肝组织 SREBP-1c 蛋白表达** ( $n = 10$ )

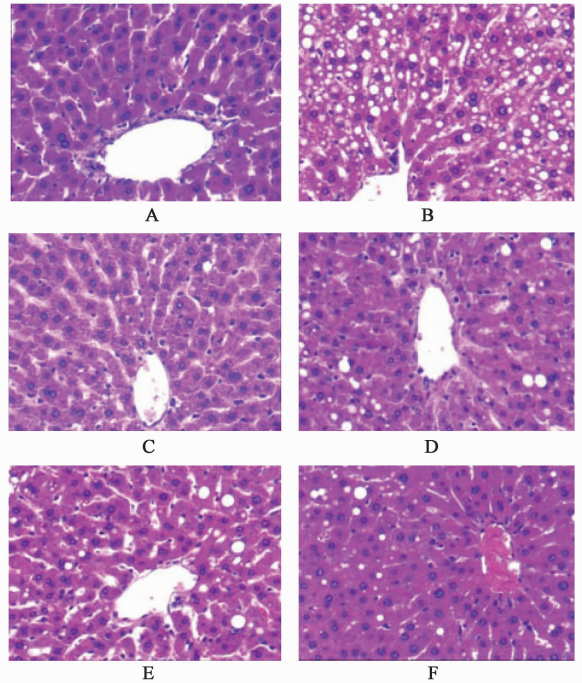


与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$

**图 2 Western blot 检测肝组织 SREBP-1c 蛋白表达灰度分析** ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

**3.8 各组大鼠肝脏病理变化** 正常组肝小叶清晰,肝细胞大小均匀,细胞核清晰可见,肝细胞索排列整齐;模型组肝细胞脂肪变脂肪浸润明显,呈弥漫性,表现为肝细胞内可见大小不等的空泡脂滴及较多的气球样变;消脂汤高、中、低剂量组肝脏脂肪变性、气

球样变较模型组显著减轻;非诺贝特组肝脏脂肪变性、气球样变较模型组显著减轻。见图 3。



- A. 正常组; B. 模型组; C. 消脂汤 42.5  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组;
- D. 消脂汤 21.5  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; E. 消脂汤 10.6  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组;
- F. 非诺贝特 0.05  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组

**图 3 各组大鼠肝组织的病理变化** (HE 染色,  $\times 200$ )

## 4 讨论

本研究首次阐明,消脂汤能显著改善高脂饮食诱导的 NAFLD 大鼠肝脏脂肪蓄积和胰岛素抵抗 (IR)。长期高脂饮食可导致体内高胰岛素血症和 (或) IR,引起 TG 和 (或) TC 在肝组织中蓄积,造成肝细胞脂肪变性<sup>[7]</sup>。NAFLD 血清中的 FFA, FINS, MDA, SREBP-1c 等含量明显升高,可能是本病的特异性检测指标<sup>[8]</sup>。因此,本病的研究中常采用高脂饮食诱导大鼠产生 NAFLD,以复制人类 NAFLD 模型<sup>[9]</sup>。

NAFLD 是代谢综合征 (包括肥胖、2 型糖尿病、心血管疾病等) 在肝脏的表现<sup>[8]</sup>,肝实质细胞中脂肪蓄积由脂肪酸 (FA) 代谢异常引起。本研究表明,消脂汤能显著改善 IR,降低血清中 TG, TC, FFA 的含量 (见表 2,4),这可能是其能明显改善肝脏脂肪蓄积的关键所在。但消脂汤是如何降低 FFA 含量,其改善 IR 的具体机制还有待进一步研究。

Videla 等认为 FA 代谢受损引起的多种细胞氧化应激可能是促进 NAFLD 发展的机制<sup>[10]</sup>。肝细胞内的活性氧簇 (ROS) 失衡引发的脂质过氧化会导致

脂肪性肝炎(NASH)的发生:在肝脏脂肪变性过程中,生成过多的 ROS 会使脂质过氧化物增多,如 MDA 等<sup>[11]</sup>。这一系列过程会导致脂质过氧化作用增强,肝细胞损伤、炎症和肝纤维化。本研究表明消脂汤能明显改善肝脏的炎症反应(见表 5,图 3),这可能与其降低 MDA 含量,促进 SOD 的分泌有关。

SREBP-1c 是一类位于内质网上的膜连接蛋白,是肝脏 FA 和 TG 合成的几乎所有基因的转录活化因子,是脂质代谢调控网络的关键连接点<sup>[12]</sup>。Knebel 等研究表明,高脂饲料建立 NAFLD 模型后,SREBP-1c 蛋白的表达显著增高,并与 NAFLD 的严重程度密切相关<sup>[13]</sup>。Ascencio C. 等<sup>[14]</sup>发现,给予大鼠大豆蛋白能显著降低大鼠 SREBP-1c mRNA 的表达水平,下调 FA 合成的关键酶苹果酸脱氢酶及脂肪酸合成酶的表达,最终能改善肝脏的脂质堆积,从而防治 NAFLD。本研究中模型组 SREBP-1c mRNA 和蛋白表达水平明显升高(见图 1,2),消脂汤组显著降低,且呈剂量依赖性,表明 SREBP-1c 是消脂汤改善 NAFLD 脂质蓄积的作用靶点之一。

总之,本研究表明消脂汤能显著改善 NAFLD 的 IR,减轻氧化应激。NAFLD 中肝脏脂肪蓄积和炎症反应明显缓解,而下调 SREBP-1c mRNA 和蛋白表达可能是其作用机制之一。

#### [参考文献]

[ 1 ] Chalasani N, Younossi Z, Lavine J E, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease:practice guideline by the American Association for the study of liver diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association[J]. *Hepatology*, 2012,55(6):2005.

[ 2 ] Mencin Ali A, Lavine Joel E. Nonalcoholic fatty liver disease in children [J]. *Curr Opin Clin Nutr*, 2011,14(2):151.

[ 3 ] Charlton M R, Burns J M, Pedersen R A, et al. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States [J]. *Gastroenterology*,2011,141(4):1249.

[ 4 ] Ahmed M H, Byrne C D. Current treatment of non-

alcoholic fatty liver disease [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2009,11(3):188.

[ 5 ] Dixon J B, Bhathal P S, Hughes N R, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: Improvement in liver histological analysis with weight loss [J]. *Hepatology*, 2004,39(6):1647.

[ 6 ] 石磊,袁冬生,朱彩平,等. 消脂汤对四环素致小鼠脂肪肝模型的保护作用研究[J]. *热带医学杂志*,2008,8(8):769.

[ 7 ] Adams L A, Waters O R, Knuiaman M W, et al. NAFLD as a risk factor for the development of diabetes and the metabolic syndrome: an eleven-year follow-up study[J]. *Am J Gastroenterol*, 2009,104(4):861.

[ 8 ] Fang D L, Wan Y, Shen W, et al. Endoplasmic reticulum stress leads to lipid accumulation through upregulation of SREBP-1c in normal hepatic and hepatoma cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 381(1/2):127.

[ 9 ] Lieber C S, Leo M A, Mak K M, et al. Model of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Am J Clin Nutr*,2004,79(3):502.

[10] Videla L A, Rodrigo R, Orellana M, et al. Oxidative stress-related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients [J]. *Clin Sci*, 2004, 106(3):261.

[11] Day C P. Steatohepatitis: a tale of two/hits? [J]. *Gastroenterology*, 1998,114(4):842.

[12] Namikawa C, Shu-Ping Z, Vyselaar J R, et al. Polymorphisms of microsomal triglyceride transfer protein gene and manganese superoxide dismutase gene in nonalcoholic steatohepatitis [J]. *J Hepatol*, 2004, 40(5):781.

[13] Knebel B, Haas J, Hartwig S, et al Liver-specific expression of transcriptionally active SREBP-1c is associated with fatty liver and increased visceral fat mass [J]. *PLoS One*, 2012,7(2):e31812.

[14] Ascencio C, Torres N, Isoard-Acosta F, et al. Soy protein affects serum insulin and hepatic AREBP-1MRNA and reduces fatty liver in rats [J]. *J Nutr*, 2004,134(3):522.

[责任编辑 聂淑琴]