

桑白皮黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠非酒精性脂肪肝血管生成相关基因的影响

秦阳, 高颖, 高英, 李卫民*

(广州中医药大学 中药学院, 广州 510006)

【摘要】 **目的:**初步探索桑白皮黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制研究。**方法:**将 24 只雄性大鼠随机分为 3 组,分别为正常组、模型组、桑白皮黄酮组(1.0 g·kg⁻¹)。采用腹腔注射小剂量链脲佐菌素(streptozocin, STZ)结合高脂饲料喂养的方法,建立 2 型糖尿病伴非酒精性脂肪肝的模型,灌胃治疗 16 周时,观察比较桑白皮黄酮提取物对各组大鼠血清中空腹血糖(FBG),总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),糖耐量(OGTT)变化,油红 O 染色和苏木素-伊红(HE)染色观察肝脏病理改变,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测肝脏血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),血小板衍生因子(platelet derived growth factor, PDGF)mRNA 的表达。**结果:**灌胃干预 16 周后,与正常组比较,模型组大鼠 FBG,TC,TG,LDL-C,含量均显著高于正常组($P < 0.05$),应用桑白皮黄酮治疗后,上述生化指标较模型组均有显著下降($P < 0.05$)。糖耐量试验显示模型组胰岛素敏感性下降,应用桑白皮黄酮治疗后胰岛素敏感性较模型组有显著改善。油红 O 染色结果显示模型组肝细胞胞浆内可见大量红染的脂肪滴,而桑白皮黄酮组肝细胞胞浆内未见红染的脂肪滴。HE 染色结果显示模型组肝小叶中肝细胞发生明显的小泡样脂肪变性,部分肝细胞中脂滴融合成大的脂肪空泡,小叶中可见点状坏死,周围有炎性细胞浸润,而桑白皮黄酮组肝细胞结构正常。模型组肝脏中 VEGF, PDGF mRNA 表达量较正常组有显著升高,应用桑白皮黄酮治疗后,肝脏中 VEGF, PDGF mRNA 表达量明显降低($P < 0.05$)。**结论:**桑白皮黄酮提取物对实验性 2 型糖尿病大鼠非酒精性脂肪性肝有一定的防治作用,其作用机制可能与抑制肝脏中 VEGF, PDGF mRNA 的表达有关。

【关键词】 桑白皮黄酮; 2 型糖尿病; 非酒精性脂肪肝; 血管内皮生长因子; 血小板衍生因子

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2017)17-0144-05

【doi】 10.13422/j.cnki.syfjx.2017170144

【网络出版地址】 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170609.1523.020.html>

【网络出版时间】 2017-06-09 15:23

Effect of Cortex Mori Flavone Extracts on Angiogenesis-related Genes in Nonalcoholic Fatty Liver of Type 2 Diabetic Rats

QIN Yang, GAO Ying, GAO Ying, LI Wei-min*

(School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

【Abstract】 **Objective:** To explore the therapeutic effect and mechanism of Cortex Mori flavone extracts on nonalcoholic fatty liver in type 2 diabetic rats. **Method:** Total 24 male rats were randomly divided into three groups: normal group, model group and Cortex Mori flavone extracts group (1.0 g·kg⁻¹). The model of type 2 diabetes mellitus with nonalcoholic fatty liver was established by intraperitoneal injection of low dose streptozocin (STZ) combined with high fat diet. At the 16th week of gavage treatment, the fasting blood glucose (FBG), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and oral glucose tolerance test (OGTT) were observed and compared. Oil red O staining and HE staining were used to observe the pathological

【收稿日期】 20170413(021)

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81373775)

【第一作者】 秦阳,在读硕士,从事中药新药的研究与开发, Tel: 15521211076, E-mail: 1184151435@qq.com

【通讯作者】 *李卫民,博士,教授,从事中药新药的研究与开发工作, Tel: 020-39358290, E-mail: liweimin@gzucm.edu.cn

changes of the liver, and Real-time PCR was used to detect the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet derived growth factor (PDGF) mRNA. **Result:** After 16 weeks of intervention, the levels of fasting blood glucose (FBG), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in model group were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). After the application of Cortex Mori flavone extracts, the above biochemical indexes dropped significantly in Cortex Mori flavone extracts group. As compared with normal control group, the oral glucose tolerance test showed that the insulin sensitivity was decreased in the model group, and it was significantly improved after the application of Cortex Mori flavone extracts ($P < 0.05$). The results of oil red O staining showed that a large amount of red dye was observed in the cytoplasm of hepatocytes in the model group, but no red dye was found in the cytoplasm of the hepatocytes of the Cortex Mori flavone extracts group. HE staining showed that the liver cells in the model group had obvious vesicular steatosis, and the lipid droplets in the partial hepatocytes were fused into large fat vacuoles; meanwhile, infiltration of inflammatory cells was seen in the leaves. However, the structure of hepatocytes in the Cortex Mori flavone extracts group was normal. The expression levels of VEGF and PDGF mRNA in the liver of the model group were significantly higher than those in the normal group, and the levels were significantly decreased after treatment with Cortex Mori flavone extracts ($P < 0.05$). **Conclusion:** Cortex Mori flavone extracts have certain therapeutic effect on nonalcoholic fatty liver in type 2 diabetic rats, and the mechanism may be related to the inhibition of VEGF and PDGF mRNA expression in the liver.

[**Key words**] Cortex Mori flavone extracts; type 2 diabetes mellitus; nonalcoholic fatty liver; vascular endothelial growth factor (VEGF); platelet derived growth factor (PDGF)

非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是代谢综合征的肝脏表现, 其发病与 2 型糖尿病、脂代谢紊乱、肥胖密切相关^[1]。非酒精性单纯性脂肪肝 (NAFL), 非酒精性脂肪性肝炎 (NASH), 脂肪性肝硬化 (FLC) 是非酒精性脂肪肝病在肝脏受损不同时期的一组疾病表现^[2]。从脂肪变性到 NASH 早期阶段, 肝窦内皮细胞发生毛细血管化, 并且随时间逐渐恶化直至 NASH 晚期。肝窦毛细血管化作为 NASH 病理过程中最早的形态学变化, 先于肝星状细胞活化, 最终发展为肝炎、肝纤维化、肝硬化^[3]。靶向抑制肝窦毛细血管生成有助于发现阻止疾病进展和促进疾病愈后的新型治疗策略。血管内皮生长因子 (VEGF) 是一种糖蛋白, 具有特异性的使血管内皮细胞增殖和诱导血管生成的作用^[4-5]。在肝脏血管生成中, 血小板衍生因子 (PDGF) 使含有其受体的间质星形细胞募集于新生成的血管周围, 促使新血管稳定并转化为具有正常生理功能的血管。桑白皮 (Cortex Mori) 为桑科植物桑的干燥根皮, 味甘性寒, 归肺经, 有泻肺平喘、利水消肿的功效^[6], 临床研究表明桑白皮用于治疗糖尿病是有效的^[7-8]。前期研究发现桑白皮黄酮提取物能够改善 2 型糖尿病大鼠的胰岛素敏感性, 改善糖、脂代谢紊乱^[9-10], 对非酒精性脂肪肝起到治疗作用。本实验通过 2 型糖尿病伴非酒精性脂肪肝大鼠病理

学改变及血管生成相关的 VEGF, PDGF 基因的研究, 从分子水平探讨桑白皮黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠非酒精性脂肪肝的治疗作用及机制。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 SD 大鼠 24 只, SPF 级, 体重 (190 ± 20) g, 购自于广东省医学实验动物中心, 合格证号 SCXK (粤) 2013-0002。饲养于广东药科大学实验动物中心 SPF 级动物实验室, 许可证号 SYXK (粤) 2012-0125。本研究所涉及的动物相关操作均在广东药科大学动物伦理委员会的批准下进行 (批准号 gdpulac2016033)。

1.2 饲料配比 质量分数配比: 酪蛋白 10%, 蔗糖 20%, 胆固醇 1.2%, 磷酸氢钙 0.6%, 胆酸钠 0.2%, 猪油 15%, 石粉 0.4%, 基础饲料 52.2%, 预混料 0.4%。由广东省医学实验动物中心加工, 合格证号 SCXK (粤) 2013-0002。其中, 基础饲料由广东药科大学实验动物中心提供。

1.3 药物及试剂 桑白皮黄酮提取物, 棕褐色粉末, 由李卫民教授委托河北省邯郸市晨光生物科技股份有限公司按本课题组提供的提取工艺流程制备, 桑白皮药材由广州中医药大学高英教授鉴定为桑科植物桑 *Morus alba* 的根皮。阿拉伯树胶粉 (天津市大茂化学试剂厂, 批号 20160512); 链脲佐菌素 (STZ, 美国 Sigma 公司, 批号 B0013K030100);

葡萄糖 (Glu) 试剂盒, 甘油三酯 (TG) 试剂盒, 总胆固醇 (TC) 试剂盒, 低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 试剂盒 (上海荣盛生物药业有限公司, 批号分别为 20160402147, 20160301121, 20160402121, 20160201124); 丽春红 (广州市威佳有限公司, 批号 3476B074); 酸性品红 (天津天新精细化工开发中心, 批号 20131108); 磷钼酸 (天津市化学试剂四厂, 批号 20151102); 罗康全活力型血糖试纸 (德国罗氏诊断有限公司, 批号 24652832); 总 RNA Trizol 提取试剂盒、逆转录试剂盒、扩增试剂盒 (日本 Takara 公司, 批号分别为 AKA4501, AK3902, AK8104)。大鼠 VEGF, PDGF 和 GAPDH 的引物自行设计, 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

1.4 仪器 BMJ-A 型病理组织包埋冷冻台 (常州市中威电子仪器有限公司), BX51 型光学显微镜 (日本 Olympus 公司), 1-15k 型冷冻离心机 (美国 Sigma 公司), RT-2100C 型自动酶标仪 (德国上海创奕科教设备有限公司), CFX96™ 型实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 仪 (美国伯乐公司)。

2 方法

2.1 桑白皮黄酮提取物的制备 取桑白皮药材粉碎, 乙醇加热回流 2 次, 合并提取液, 回收乙醇, 浓缩至膏状, 加入大孔吸附树脂, 80% 乙醇洗脱, 收集洗脱液并回收乙醇, 浓缩至膏状, 即为桑白皮有效部位。其提取方法参考文献 [9]。根据 2015 年版《中国药典》一部规定, 按临床生药量计算, 以人体质量 60 kg 折算 SD 大鼠临床等效剂量。桑白皮的临床常用剂量为 6 ~ 12 g, 本实验按 12 g 计算。桑白皮黄酮提取物的提取率为 75.6%, 大鼠等效剂量系数为 6.343, 经换算大鼠一般给药量为 $12 \text{ g} \times 75.6\% / 60 \text{ kg} \times 6.343 = 0.959 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 故本实验参照前期研究基础, 给药剂量设为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ [10]。

2.2 分组、模型建立及给药 SD 大鼠基础饲料适应性喂养 1 周后, 禁食不禁水 12 h, 并随机分成 3 组: 分别为正常组、模型组、桑白皮黄酮组, 每组 8 只。正常组大鼠, 腹腔注射等体积的柠檬酸缓冲液, 模型组和桑白皮黄酮组大鼠, 按照 $37 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量, 腹腔注射 STZ 柠檬酸缓冲液。3 周后待大鼠血糖稳定, 眼眶取血, 测空腹血糖 (FBG) 和糖耐量, 选择糖耐量异常 ($2 \text{ hBG} \geq 7.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的成模大鼠纳入实验。正常组大鼠喂养基础饲料, 模型组和桑白皮黄酮组大鼠均喂养高脂饲料, 造模 8 周后按照体重正常组与模型组灌服 0.5% 阿拉伯树胶溶液

(溶媒), 桑白皮黄酮组灌服桑白皮黄酮提取物, 每日 1 次, 给药 16 周后, 实验结束处死动物立即取材。

2.3 样本采集与指标检测 于给药第 16 周做 OGT 测试, 末次给药后禁食不禁水 12 h 左右, 经腹主动脉取血约 5 mL, 分离血清, 保存于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中, 待检测血清中 FBG, TC, TG, LDL-C。无酶冻存管保存备用, 按试剂说明提取肝脏组织总 RNA, 另取部分肝脏组织用 10% 甲醛溶液固定, 进行常规石蜡包埋, 分别供油红 O 染色和苏木素-伊红 (HE) 染色使用。

2.4 Real-time PCR 检测 VEGF 和 PDGF mRNA 表达 用 Trizol 提取肝脏组织总 RNA, 用微量紫外分光光度计测定其浓度及纯度, 然后逆转录成 cDNA。以 GAPDH 为内参, 上游 5'-TGATTCTACCCACG GCAAGT-3', 下游 5'-AGCATCACCCCATTTGATGT-3', 其扩增产物长度 92 bp; VEGF 上游 5'-TCACC AAAGCCAGCACATAG-3', 下游 5'-AATGCTTTC TCCGCTCTGAA-3', 其扩增产物长度 125 bp; PDGF 上游 5'-AGTGTCAAGGTGCCAAAGT-3', 下游 5'-GATGGTCTGGGTTTCAGGTTG-3', 其扩增产物长度 121 bp。PDGF 反应体系为 cDNA 2 μL , 上下游引物各 1 μL , SYBR® Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) 12.5 μL , 无 RNase 水 8.5 μL ; 反应条件为 95 $^\circ\text{C}$ 预变性 30 s, 95 $^\circ\text{C}$ 变性 5 s, 54.5 $^\circ\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 1 min, 进行 39 次循环, 最后 72 $^\circ\text{C}$ 10 min 终止反应。PDGF 反应体系除退火温度为 57.5 $^\circ\text{C}$ 外, 反应体系和反应步骤同 VEGF。结果用 C_t 值表示, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对目的基因进行相对定量分析。

2.5 统计学分析 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 20.0 软件对结果进行分析。两组比较采用 t 检验, 若方差齐, 用 LSD- t test 法; 若方差不齐, 用 Bunnnett's T3 Test 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠一般情况的影响 正常组大鼠精力充沛, 活泼好动, 皮毛整洁, 富有光泽, 体重逐渐增加; 模型组和桑白皮黄酮组造模期间体重增长速度较正常组快, 给药期间体重增长缓慢, 精神较萎靡, 动作较迟缓, 不喜动, 皮毛粗糙, 毛色晦暗, 大便稀松。

3.2 桑白皮黄酮对 2 型糖尿病大鼠血糖、血脂的影响 与正常组比较, 模型组大鼠 FBG, TC, TG, LDL-C 含量均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 桑白皮黄酮组可降低 FBG, TG, TC, LDL-C 含量 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。

表 1 桑白皮黄酮对 2 型糖尿病大鼠 FBG, TC, TG, LDL-C 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	FBG	TC	TG	LDL-C
正常	-	5.94 ± 0.55	1.85 ± 0.13	0.49 ± 0.01	1.28 ± 0.19
模型	-	9.51 ± 0.39 ²⁾	2.87 ± 0.72 ¹⁾	0.65 ± 0.02 ¹⁾	2.32 ± 0.85 ¹⁾
桑白皮黄酮	1.0	6.42 ± 0.34 ⁴⁾	1.61 ± 0.20 ³⁾	0.45 ± 0.03 ³⁾	1.12 ± 0.21 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2, 3 同)。

3.3 桑白皮黄酮对 2 型糖尿病大鼠 OGTT 结果的影响 模型组大鼠的血糖在口服葡萄糖前以及口服葡萄糖后 20, 60, 90, 120 min 时均显著高于正常对照组,

且在各时间点差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,桑白皮黄酮组在 90, 120 min 时降糖作用显著 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

表 2 桑白皮黄酮对 2 型糖尿病大鼠 OGTT 结果的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	口服葡萄糖前	口服葡萄糖后/min			
			20	60	90	120
正常	-	4.35 ± 0.13	8.13 ± 0.57	8.04 ± 0.59	6.50 ± 0.71	5.32 ± 0.31
模型	-	6.49 ± 0.78 ¹⁾	14.16 ± 0.95 ¹⁾	19.30 ± 0.77 ¹⁾	18.58 ± 0.96	11.66 ± 0.51 ¹⁾
桑白皮黄酮	1.0	4.97 ± 0.41 ³⁾	10.04 ± 0.85 ³⁾	12.11 ± 0.97 ³⁾	9.92 ± 0.77 ⁴⁾	7.60 ± 0.36 ³⁾

3.4 油红 O 染色观察肝脏组织形态改变 光镜下观察肝细胞内的脂肪滴呈红色,细胞核呈蓝色。正常组大鼠肝细胞胞浆内未见红染的脂肪滴。模型组肝细胞胞浆内可见大量红染的脂肪滴。桑白皮黄酮组肝细胞胞浆内可见少量红染的脂肪滴。见图 1。

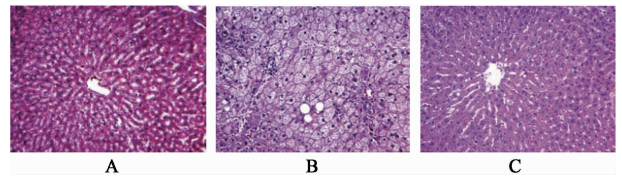
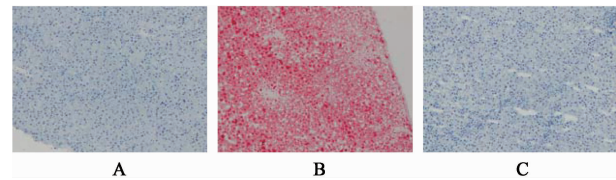


图 2 桑白皮黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠肝脏组织形态改变的影响 (HE, ×100)

Fig. 2 Effect of Cortex Mori flavone extracts on morphological changes of liver tissue in T2MD rats (HE, ×100)



A. 正常组; B. 模型组; C. 桑白皮黄酮组(图 2 同)

图 1 桑白皮黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠肝脏组织脂肪变性的影响 (油红 O, ×100)

Fig. 1 Effect of Cortex Mori flavone extracts on steatosis of liver tissue in type 2 diabetic rats (red oil O, ×100)

3.5 HE 染色观察肝脏组织形态改变 光镜下观察正常组大鼠肝小叶中央静脉周围肝板结构排列规则,肝索间可见肝窦,肝细胞未见肿胀及脂肪变性等改变,肝小叶结构完整,未见破坏及硬化等改变。模型组大鼠肝小叶中肝细胞发生明显的小泡样脂肪变性,部分肝细胞中脂滴融合成大的脂肪空泡,小叶中可见点状坏死,周围有炎性细胞浸润,小叶结构完整,未见假小叶形成。桑白皮黄酮组大鼠肝小叶中可见个别肝细胞中有脂滴,肝细胞结构正常,小叶结构完整,未见假小叶形成。见图 2。

3.6 对糖尿病大鼠肝脏 VEGF 和 PDGF mRNA 表

达的影响 与正常组比较,模型组大鼠 VEGF 和 PDGF mRNA 表达均有所上调 ($P < 0.05, P < 0.01$)。桑白皮黄酮给药后对 VEGF, PDGF 表达均明显下调 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3。

表 3 桑白皮黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠肝脏 VEGF 和 PPAR- α mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Effects of Cortex Mori flavone extracts on expression of VEGF and PDGF mRNA of liver in T2DM rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	VEGF	PDGF
正常	-	0.36 ± 0.19	0.59 ± 0.11
模型	-	0.89 ± 0.28 ¹⁾	1.00 ± 0.03 ¹⁾
桑白皮黄酮	1.0	0.38 ± 0.17 ³⁾	0.61 ± 0.10 ⁴⁾

4 讨论

因 2 型糖尿病患者糖脂代谢紊乱,游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 在血液中含有增多,从而进入肝脏的脂肪酸增加,使肝脏内 TG 形成增多,所以更

加容易形成非酒精性脂肪肝^[11]。临床研究表明,糖尿病患者中同时患有非酒精性脂肪肝的概率高达 42.6%^[12]。前期实验研究发现桑白皮黄酮提取物能够有效改善 2 型糖尿病大鼠的胰岛素敏感性,改善糖、脂代谢紊乱^[9-10],对非酒精性脂肪肝病也起到了一定的治疗作用。本实验进一步研究桑白皮黄酮提取物对 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝大鼠的治疗作用及可能机制。

本实验成功建立了应用高糖高脂饮食结合小剂量 STZ 腹腔注射方法诱导 2 型糖尿病大鼠合并非酒精性脂肪肝模型,与正常组比较,模型组大鼠血糖、血脂水平明显升高,口服葡萄糖后血糖值显著高于正常组,油红 O 染色和 HE 染色结果显示模型组大鼠肝脏脂肪变性程度严重。给药 16 周后,桑白皮黄酮组大鼠的血糖、血脂水平显著性降低,口服葡萄糖后血糖值显著降低,油红 O 染色和 HE 染色结果显示肝脏脂肪变性程度减轻,表明桑白皮黄酮提取物能有效降低 2 型糖尿病大鼠的血糖、血脂,提高葡萄糖耐受性,胰岛素敏感性增加,减轻 2 型糖尿病大鼠的非酒精性脂肪肝病变。

调控肝纤维化血管生成的众多分子机制中,其中较主要的两条是 VEGF 和 PDGF,分别在血管生成与稳定阶段均发挥重要作用。VEGF 是一种糖蛋白,具有特异性的使血管内皮细胞增殖和诱导血管生成的作用^[4-5]。正常情况下,VEGF 不参与血管生成,只维持在一个较低的水平,维持人机体正常的血管密度和通透性。实验研究显示,VEGF 参与了肝脏组织中血管的形成以及肝内皮细胞的分化和增殖。VEGF 与其受体 VEGF-R1 结合时,窦内皮细胞释 (SECs) 放各种细胞因子,促使肝细胞大量增殖与分化;当 VEGF 与受体 VEGF-R2 结合时,又促进了窦内皮细胞自身的增殖与分化^[13]。PDGF 主要存在于血小板,SECs 中,当肝脏受损时,PDGF 含量大幅增加,导致间质星形细胞急剧增殖与分化,并迅速转化为肌纤维母细胞,同时间质星形细胞迅速迁移并聚集在肝脏组织受损炎症区域。肌纤维母细胞使细胞外基质大量生成并沉积于肝细胞胞间质,促进了肝纤维化的进程^[14]。在肝脏组织的血管生成中,SECs 大量分泌 PDGF,使含有其受体的间质星形细胞募集于新生成的血管周围,促使新血管稳定并转化为具有正常生理功能的血管。本实验结果显示,与正常组比较,模型组大鼠 VEGF 和 PDGF mRNA 表达均上调,桑白皮黄酮给药后对 VEGF,PDGF 表达均显著下调。本实验结果进一步证实了调节肝组

织内血管生成相关基因表达治疗 2 型糖尿病大鼠伴非酒精性脂肪肝病具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Brindisi M C, Guiu B, Duvillard L, et al. Liver fat content is associated with an increase in cholesterol synthesis independent of statin therapy use with patients with type 2 diabetes [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 224 (2): 465-468.
- [2] Farrell G C, Larter C Z. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis [J]. *Hepatology*. 2006, 43 (S1):99-112.
- [3] Miyao M, Kotani H, Ishida T, et al. Pivotal role of liver sinusoidal endothelial cells in NAFLD/NASH progression [J]. *Lab Invest*, 2015, 95 (10): 1130-1144.
- [4] Bootle-Wilbraham C A, Tazzyman S, Thompson W D, et al. Fibrin fragment E stimulates the proliferation, migration and differentiation of human microvascular endothelial cells *in vitro* [J]. *Angiogenesis*, 2001, 4 (4): 269-275.
- [5] Kroll J, Waltenberger J. Regulation of the endothelial function and angiogenesis by vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) [J]. *Z Kardiol*, 2000, 89 (3): 206-218.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 280.
- [7] 杨燕彬, 张骤珠, 杨丽, 等. 从肺、脾(胃)、肾论治消渴病[J]. *长春中医学院学报*, 2002, 18(1): 12.
- [8] 陈继新, 王建华. 从肺脾肾气虚论治糖尿病[J]. *陕西中医*, 2003, 24 (4): 339-341.
- [9] 齐翠翠. 桑白皮异戊烯基黄酮工艺、质控及药效初探[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [10] 高颖, 高英, 李艳, 等. 桑白皮黄酮提取物对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. *广州中医药大学学报*, 2016, 6(1): 831-835.
- [11] Nolan C J, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across from: pathophysiology to prevention and management [J]. *Lancet*, 2011, 378 (9786): 169-181.
- [12] Williamson R M, Price J F, Glancy S, et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis and nonalcoholic fatty liver disease in people with type 2 diabetes; the edinburgh type 2 diabetes study [J]. *Diabetes Care*, 2011, 34 (5): 1139-1144.
- [13] Le Couter J, Moritz D R, Li B, et al. Angiogenesis-independent endothelial protection of liver: role of VEGFR-1 [J]. *Science*, 2003, 299(5608): 890-893.
- [14] Heldin C H, Westermark B. Mechanism of action and *in vivo* role of platelet-derived growth factor [J]. *Physiol Rev*, 1999, 79(4): 1283-1316.

[责任编辑 邹晓翠]