

# 布渣叶对非酒精性脂肪性肝病小鼠的作用及机制

宿世震\*, 项东宇, 刘晓庆, 荆雪宁, 孟繁伟  
(山东中医药高等专科学校, 山东烟台 264199)

**[摘要]** **目的:**探讨布渣叶对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)模型小鼠的肝脏是否具有保护作用及其机制。**方法:**将 BALB/c 小鼠随机分为正常组、模型组、辛伐他汀组(2.5 mg·kg<sup>-1</sup>),布渣叶低、高剂量组(3.5, 7.0 g·kg<sup>-1</sup>),用高糖高脂饲料喂养12周制备 NAFLD 模型,灌胃给药,每天1次,28 d 测定甘油三酯(triglyceride, TG),胆固醇(cholesterol, TC),高密度脂蛋白(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C),低密度脂蛋白(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C),丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST),计算肝指数(肝湿重/体重×100%);黄嘌呤氧化酶法测定肝匀浆中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、硫代巴比妥酸法测定丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量;用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝组织中脂联素受体2(adiponectin receptor 2, Adipo R2)蛋白表达;光镜观察肝组织形态改变。**结果:**与正常组比较,模型组小鼠 TC, TG, LDL-C, AST, ALT 水平及肝指数显著升高( $P < 0.01$ ),HDL-C 含量下降( $P < 0.01$ );肝组织中 SOD 活性下降( $P < 0.01$ ),MDA 含量显著升高( $P < 0.01$ );肝组织中 Adipo R2 蛋白表达减少( $P < 0.01$ ),肝脏脂肪变明显( $P < 0.01$ )。与模型组比较,布渣叶可降低血清 TC, TG, LDL-C, AST, ALT 水平及肝指数( $P < 0.01$ );降低肝组织中 MDA 含量( $P < 0.01$ ),提高 SOD 活性( $P < 0.01$ );肝组织中 Adipo R2 蛋白表达增加( $P < 0.05$ );肝细胞脂肪变性程度明显减轻( $P < 0.01$ )。**结论:**布渣叶对 NAFLD 模型小鼠具有降脂、保肝作用,其机制可能与抑制氧化应激、增加 Adipo R2 的表达有关。

**[关键词]** 布渣叶; 非酒精性脂肪性肝病; 小鼠; 脂质代谢; 氧化应激; 脂联素受体2

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)01-0130-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018010130

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171011.1358.024.html>

**[网络出版时间]** 2017-10-11 13:58

## Effect and Mechanism of Micrococtis Folinm on Mouses with Non-alcoholic Fatty Liver Disease

SU Shi-zhen\*, XIANG Dong-yu, LIU Xiao-qing, JING Xue-ning, MENG Fan-wei  
(Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 264199, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the protective effect and mechanism of Micrococtis Folinm on liver of Mouse with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Method:** BALB/c mouse were randomly divided into normal group, model group, simvastatin group (2.5 mg·kg<sup>-1</sup>) and high and low-dose Micrococtis Folinm groups (3.5, 7.0 g·kg<sup>-1</sup>). The NAFLD model was prepared through intragastric administration with high-sugar and high-fat diets for 12 weeks, once a day. Serum triglyceride (TG), cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), alanine amino transaminase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected, and liver index were calculated (liver wet weight/body weight × 100%) at the 28<sup>th</sup> day. Activity of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in liver homogenate were determined by xanthine oxidase and thiobarbital acid method, respectively. Adiponectin receptor 2 (Adipo R2) in liver tissues was detected by western blotting. The morphological changes in liver tissues were observed under light microscope. **Result:** Compared with the normal group, the model group showed higher levels of serum TC, TG, LDL-C, AST and ALT ( $P < 0.01$ ), and a lower level of serum HDL-C ( $P < 0.01$ ), higher liver index ( $P <$

**[收稿日期]** 20170723(014)

**[基金项目]** 山东中医药高等专科学校科研项目(2015ky010)

**[通信作者]** \* 宿世震, 硕士, 讲师, 从事动物实验及解剖学研究, Tel:0535-5136892, E-mail:ssz169@126.com

0.01), lower SOD activity ( $P < 0.01$ ) and higher MDA ( $P < 0.01$ ) in liver homogenate, decreased Adipo R2 protein expression in liver tissues ( $P < 0.05$ ), and severer hepatic steatosis ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the Micrococtis Folinm group showed lower levels of serum TC, TG, LDL-C, AST and ALT ( $P < 0.01$ ), lower liver index ( $P < 0.01$ ), lower MDA ( $P < 0.01$ ) and increased SOD activity ( $P < 0.01$ ) in liver homogenate, increased Adipo R2 protein expression in liver tissues ( $P < 0.05$ ), and significantly relieved liver steatosis ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Micrococtis Folinm has lipid-lowering and hepatoprotective effects on NAFLD mice, and its mechanism may be related to the inhibition of oxidative stress and the increase of Adipo R2 expression.

[**Key words**] Micrococtis Folinm; non-alcoholic fatty liver disease; mice; lipid metabolism; oxidative stress; adiponectin receptor 2 (Adipo R2)

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是指无酗酒经历而出现肝细胞脂肪变性的肝脏疾病<sup>[1]</sup>, NAFLD 在发达国家肝脏疾病中居首位, 在我国已成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病<sup>[2]</sup>。目前, 对于 NAFLD 发病机制的研究主要围绕在脂代谢异常、胰岛素抵抗、脂质过氧化及炎症反应等方面<sup>[3-4]</sup>。脂联素 (adiponectin, APN) 是一种新发现的由脂肪细胞特异性分泌的激素, 具有广泛生物学效应, 与其受体结合后可以影响糖代谢、肝脏脂肪代谢、炎症因子产生和胰岛素敏感性等, 从而抑制 NAFLD 的形成与进展<sup>[5]</sup>。

研究发现, 中医药疗法对 NAFLD 的治疗具有独特优势<sup>[6-7]</sup>, 胡向阳等<sup>[8]</sup>研究发现布渣叶对 NAFLD 具有一定治疗作用, 但就布渣叶对 NAFLD 动物模型的肝脏病理形态学, APN 及其受体的影响研究尚未见报道。本实验采用高糖、高脂饮食建立 NAFLD 小鼠模型, 检测血清甘油三酯 (triglyceride, TG), 胆固醇 (cholesterol, TC), 高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C), 低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C), 丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT), 天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平, 测定肝组织中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性, 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量, 观测肝指数、肝组织结构改变及 Adipo R2 蛋白的表达, 旨在探讨布渣叶对 NAFLD 模型小鼠的肝脏的保护作用及其机制。

## 1 材料

**1.1 动物及饲料** BALB/c 小鼠, 6 周龄, SPF 级, 体重 20 ~ 25 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 合格证号 SCXK (京) 2014-0004。高糖、高脂饲料 (10% 猪油, 10% 蔗糖, 2% 胆固醇, 10% 蛋黄粉, 68% 基础饲料, 批号 20160829) 购自江苏协同医

药生物工程公司。动物实验符合山东中医药高等专科学校伦理委员会标准, 实验动物伦理审查编号 20160908。

**1.2 药物及试剂** 布渣叶购自北京同仁堂烟台一分店, 经山东中医药高等专科学校鉴定教研室张钦德教授鉴定为椴树科植物破布叶 *Microcos paniculata* 的干燥叶。辛伐他汀 (山东鲁抗医药股份有限公司, 批号 H20083839); 5 × 蛋白上样缓冲液 [天根生化科技 (北京) 有限公司, 批号 170218]; 磷酸盐缓冲液 (PBS, 武汉谷歌生物科技有限公司, 批号 161827); 脂联素受体 2 (Adipo R2) 一抗 (美国 Abcam 公司, 批号 ab12612); TC, TG, LDL-C, HDL-C, ALT, AST 试剂盒 (中生北控生物科技股份有限公司, 批号分别为 161209, 161221, 161117, 161225, 170206, 161219); SOD, 考马斯亮兰蛋白, MDA 试剂盒 (均南京建成生物工程研究所, 批号分别为 20170218, 20170119, 20170218);  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin, 美国 Bioworld 公司, 批号 AB02231)。

**1.3 仪器** MINDRAY BS-200 型全自动生化分析仪 (深圳迈瑞医疗公司); TU-1900 型分光光度计 (北京普新通用仪器有限公司); RM2016 型 LEICA 病理切片仪 (上海徠卡仪器有限公司); 5300 型凝胶成像系统, VE-180 型垂直电泳槽 (上海天能科技有限公司); 153BR 型转膜仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

## 2 方法

**2.1 布渣叶水煎液制备** 布渣叶 0.5 kg 加入 5 倍量水, 冷水浸泡 30 min 后, 开始武火煎煮, 煮沸后用文火慢煎 20 min, 趁热过滤。煎煮第 2 遍加入 4 倍量水, 煎法同上, 合并滤液。60 °C 恒温下旋转蒸发浓缩, 浓缩为含生药 6 g · mL<sup>-1</sup> 的水煎液, 置 4 °C 冰箱保存备用。

**2.2 NAFLD 小鼠模型制备、分组及给药** 小鼠 65

只,雄性,适应性喂养 1 周后按体重随机选取 15 只作为正常组,给予普通饲料喂养,余 50 只小鼠给予高糖、高脂饲料喂养<sup>[9]</sup>,12 周后,从正常组和造模组中各随机选取 2 只处死,取血测定 TC, TG, LDL-C, HDL-C, ALT, AST,取肝组织苏木素-伊红(HE)染色,证实模型复制成功后<sup>[1]</sup>,模型小鼠按体重随机分为模型组,辛伐他汀组(2.5 mg·kg<sup>-1</sup>),布渣叶低、高剂量组(3.5,7.0 g·kg<sup>-1</sup>),每组 10 只,继续喂以高糖、高脂饲料。模型组和正常组给予等体积蒸馏水,灌胃给药,每日 1 次,连续 28 d。

**2.3 指标检测** 于实验结束前夜起禁食 12 h,称重后,腹腔注射 2% 戊巴比妥钠(50 mg·kg<sup>-1</sup>)麻醉,心脏取血,分离血清,全自动生化分析仪检测 TC, TG, LDL-C, HDL-C, ALT, AST;迅速剖开腹腔,肉眼观察肝脏大体外观后取肝脏,生理盐水冲洗,滤纸吸干后称重(计算肝指数 = 肝脏质量/体重 × 100%)。从肝脏右叶中部取小块肝组织,冰浴下制成 10% 组织匀浆,采用黄嘌呤氧化酶法测定肝匀浆中 SOD 活性,硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量,严格按试剂盒说明书操作。

**2.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝组织 Adipo R2 表达水平** 精密称取肝组织 100 mg 加入裂解液冰水中裂解离心后取上清液,用 BCA 法测定总蛋白浓度。调整浓度后加样电泳分离,再将蛋白转移到纤维素膜上,5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h。一抗(1:2 000)4 ℃ 摇床过夜,二抗(1:3 000)摇床上避光温育 2 h,将清洗完毕的 PVDF 膜置于天能 5300 凝胶成像系统内,发光液撒在 PVDF 膜上,运行凝胶

成像系统的软件,拍照并保存,以目的蛋白的灰度值与  $\beta$ -actin 的灰度值比值表示该样品的目的蛋白相对含量。

**2.5 病理取材、标本制备与光镜观察** 取部分肝组织置 10% 甲醛溶液中固定,常规石蜡包埋,切片,HE 染色,切片均由有经验的病理科医师评分,光镜下观察肝细胞脂肪变性分度、炎症活动度<sup>[11]</sup>,脂肪变性评分标准依据肝细胞含脂滴的百分比设定为无,≤25%,26%~50%,51%~75%,>75% 这 5 个层次,积分分别为 0,1,2,3 和 4 分。炎症标准依据肝叶内炎症细胞浸润设定为无、轻微、轻度、中度和重度 5 个层次,积分分别为 0,1,2,3 和 4 分。

**2.6 统计学分析** 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,所有数据应用 SPSS 13.0 进行分析,组间比较采用方差分析,两两比较采用 SNK 法, $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对动物一般情况的影响** 实验过程中无动物死亡,正常组小鼠精神状态良好,活动正常,毛发光泽度好。模型组小鼠表现出反应迟钝,毛发光泽度减弱,不精神,活动量减少。各治疗组大鼠一般情况较模型组有所改善。与正常组比较,模型组小鼠体重、肝湿重、肝指数均明显增加( $P < 0.01$ );与模型组比较,布渣叶 3.5 g·kg<sup>-1</sup> 组小鼠体重下降( $P < 0.05$ ),肝湿重降低( $P < 0.05$ ),肝指数降低( $P < 0.05$ );布渣叶 7.0 g·kg<sup>-1</sup> 组小鼠体重明显下降( $P < 0.01$ ),肝湿重明显降低( $P < 0.01$ ),肝指数明显降低( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 布渣叶对非酒精性脂肪性肝病小鼠体重、肝湿重和肝指数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of Micrococtis Folinm body mass, hepatohygroscopic weight and liver index of non-alcoholic fatty liver disease mice( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	体重/g	肝湿重/g	肝指数/%
正常	-	28.23 ± 2.01	1.49 ± 0.96	0.042 9 ± 0.028
模型	-	39.67 ± 2.32 <sup>2)</sup>	2.95 ± 1.16 <sup>2)</sup>	0.052 8 ± 0.032 <sup>2)</sup>
辛伐他汀	0.002 5	27.18 ± 1.98 <sup>4)</sup>	1.94 ± 1.25 <sup>4)</sup>	0.045 3 ± 0.021 <sup>4)</sup>
布渣叶	3.5	34.22 ± 2.56 <sup>3)</sup>	2.57 ± 2.02 <sup>3)</sup>	0.050 9 ± 0.019 <sup>3)</sup>
	7.0	29.43 ± 3.16 <sup>4)</sup>	2.02 ± 1.63 <sup>4)</sup>	0.047 2 ± 0.031 <sup>4)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ ;与辛伐他汀组比较<sup>5)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>6)</sup>  $P < 0.01$ (表 2,3 同)。

**3.2 对 NAFLD 小鼠血脂的影响** 与正常组比较,模型组小鼠血清 TC, TG, LDL-C 水平均显著升高( $P < 0.01$ ),HDL-C 含量下降( $P < 0.01$ )。与模型组比较,布渣叶 3.5 g·kg<sup>-1</sup> 组小鼠血清 TC, TG, LDL-C 水平均

下降( $P < 0.05, P < 0.01$ ),HDL-C 含量升高( $P < 0.05$ );布渣叶 7.0 g·kg<sup>-1</sup> 组小鼠血清 TC, TG, LDL-C 水平均明显下降( $P < 0.01$ ),HDL-C 含量升高( $P < 0.01$ ),但作用不及辛伐他汀( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 布渣叶对非酒精性脂肪性肝病小鼠血脂的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	TG	TC	LDL-C	HDL-C
正常	-	0.98 ± 0.09	1.63 ± 0.07	0.22 ± 0.02	1.18 ± 0.04
模型	-	2.27 ± 0.10 <sup>2)</sup>	3.65 ± 0.11 <sup>2)</sup>	0.61 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.63 ± 0.06 <sup>2)</sup>
辛伐他汀	0.002 5	1.43 ± 0.12 <sup>4)</sup>	2.11 ± 0.11 <sup>4)</sup>	0.37 ± 0.04 <sup>4)</sup>	0.92 ± 0.07 <sup>4)</sup>
布渣叶	3.5	1.85 ± 0.10 <sup>4)</sup>	3.09 ± 0.13 <sup>3)</sup>	0.51 ± 0.03 <sup>4)</sup>	0.69 ± 0.05 <sup>3)</sup>
	7.0	1.79 ± 0.13 <sup>4,6)</sup>	2.67 ± 0.10 <sup>4,6)</sup>	0.45 ± 0.04 <sup>4,6)</sup>	0.79 ± 0.05 <sup>4,6)</sup>

3.3 对 NAFLD 小鼠血清 ALT,AST,肝组织 SOD 活性,MDA 含量的影响 与正常组比较,模型组小鼠血清 ALT,AST 水平均呈现升高 ( $P < 0.01$ ),肝组织中 MDA 含量显著升高 ( $P < 0.01$ ),SOD 活性显著下降 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,布渣叶 (3.5,

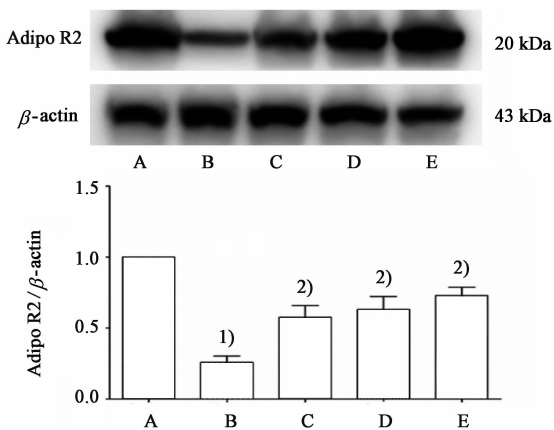
7.0  $g \cdot kg^{-1}$ ) 组 ALT,AST 水平均呈现下降 ( $P < 0.01$ ),布渣叶 7.0  $g \cdot kg^{-1}$  组的作用优于辛伐他汀 ( $P < 0.01$ );布渣叶 (3.5,7.0  $g \cdot kg^{-1}$ ) 组肝组织中 MDA 含量显著下降 ( $P < 0.01$ ),SOD 活性显著提升 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 布渣叶对非酒精性脂肪性肝病小鼠 ALT,AST,SOD,MDA 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	ALT/ $U \cdot L^{-1}$	AST/ $U \cdot L^{-1}$	SOD/ $U \cdot mL^{-1}$	MDA/ $mmol \cdot L^{-1}$
正常	-	25.12 ± 1.02	32.08 ± 1.54	289.32 ± 4.56	3.24 ± 0.42
模型	-	58.78 ± 3.42 <sup>2)</sup>	67.35 ± 2.29 <sup>2)</sup>	183.41 ± 5.12 <sup>2)</sup>	9.28 ± 1.01 <sup>2)</sup>
辛伐他汀	0.002 5	53.72 ± 2.93 <sup>4)</sup>	60.24 ± 2.06 <sup>4)</sup>	203.23 ± 4.11 <sup>3)</sup>	7.42 ± 0.84 <sup>4)</sup>
布渣叶	3.5	49.31 ± 2.21 <sup>4)</sup>	58.28 ± 2.15 <sup>4)</sup>	216.46 ± 6.18 <sup>4)</sup>	6.99 ± 0.73 <sup>4)</sup>
	7.0	40.52 ± 3.26 <sup>4,6)</sup>	50.22 ± 2.63 <sup>4,6)</sup>	238.69 ± 5.38 <sup>4)</sup>	5.65 ± 0.63 <sup>4)</sup>

3.4 对 NAFLD 小鼠肝组织 Adipo R2 的影响 与正常组比较,模型组小鼠肝脏中 Adipo R2 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,布渣叶 (3.5,7.0  $g \cdot kg^{-1}$ ) 组小鼠肝脏中 Adipo R2 蛋白表达显著升高 ( $P < 0.05$ )。见图 1。

3.5 对小鼠肝脏形态学变化的影响 肉眼观:正常组肝脏包膜光滑完整,颜色暗红,光滑柔嫩,边缘薄,切面无油腻感。模型组肝脏体积明显增大,颜色发黄,边缘变厚,切面触之有明显油腻感。布渣叶 3.5  $g \cdot kg^{-1}$  组肝脏体积增大,色淡黄,切面有油腻感。布渣叶 7.0  $g \cdot kg^{-1}$  组和辛伐他汀组肝脏较正常组偏大,但比模型组有所减小,大部分颜色暗红、切面略有油腻感。



A. 正常组;B. 模型组;C. 辛伐他汀组;D~E. 布渣叶低、高剂量组 (图 2 同);与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$

图 1 布渣叶对小鼠肝组织中 Adipo R2 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Fig. 1 Expression of Adipo R2 protein in each group of liver tissues ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

镜下可见,正常组肝小叶结构清晰,肝索以中央静脉为中心向四周成放射状排列,肝细胞排列整齐,无脂肪性变,核圆而清晰。模型组肝小叶结构不清,肝索排列紊乱,胞质内充满大小不等的圆形脂滴,细胞核被挤向边缘。各治疗组肝小叶结构、肝索及脂滴较模型组减少,肝索轻微变形,肝窦排列基本整齐,中央静脉结构完整。见图 3。

与正常组比较,模型组肝细胞脂肪变性程度、炎症积分均明显升高 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,布渣叶 3.5  $g \cdot kg^{-1}$  组肝细胞脂肪变性程度/炎症积分均降低 ( $P < 0.05$ );布渣叶 7.0  $g \cdot kg^{-1}$  组肝细胞脂肪变性程度、炎症积分均明显降低 ( $P < 0.01$ ),但作用不及辛伐他汀 ( $P < 0.01$ )。见表 4。

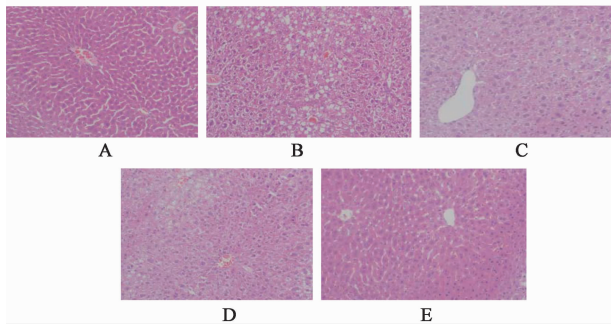


图 2 布渣叶对小鼠肝脏形态学变化的影响(HE, ×200)  
Fig. 2 Effect of morphological changes of liver in each group (HE, ×200)

表 4 布渣叶对小鼠肝细胞脂肪性变、炎症积分的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 4 Steatosis of hepatocytes and histological inflammatory grade in each group( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	脂肪性变	炎症积分
正常	-	0.11 ± 0.02	0
模型	-	4.01 ± 0.22 <sup>2)</sup>	3.95 ± 0.20 <sup>2)</sup>
辛伐他汀	0.002 5	1.23 ± 0.19 <sup>4)</sup>	1.42 ± 0.16 <sup>4)</sup>
布渣叶	3.5	2.91 ± 0.13 <sup>3)</sup>	2.88 ± 0.25 <sup>3)</sup>
	7.0	2.35 ± 0.16 <sup>4)6)</sup>	2.20 ± 0.13 <sup>4)6)</sup>

#### 4 讨论

目前认为,在 NAFLD 的发生、发展中,存在“二次打击”的病理机制<sup>[10]</sup>。脂肪肝对 NAFLD 的初次打击。高脂饮食可导致高脂血症以及肝脏脂代谢紊乱,过量高脂饮食可使肝内 TG 堆积,引起肝细胞脂肪变性,对肝脏造成初次打击,并诱导其对内外源性损害因子敏感性增高,脂肪变性的肝细胞活力下降,肝的结构和功能受损<sup>[11]</sup>。在实验中,模型组小鼠的 TC, TG, LDL-C, ALT, AST, 肝指数明显升高,肝脏脂肪变性程度和炎症活动度显著增高,差异有显著性,说明模型成立,与国内外相关研究结果相符<sup>[12-13]</sup>。布渣叶治疗组 TC, TG, LDL-C, ALT, AST 含量、肝指数显著降低,说明布渣叶具有降低 NAFLD 模型小鼠的血脂、降酶保肝,起到改善肝功能的作用,同时,病理切片也显示布渣叶能减轻肝细胞脂肪变,提示布渣叶可以防治 NAFLD 的发生和发展。

氧化应激对 NAFLD 第二次打击。氧化应激与脂质过氧化作用,加剧肝细胞损伤的程度。当肝脏发生脂肪性病变时,导致肝脏游离脂肪酸代谢紊乱、线粒体功能紊乱,脂质过氧化产物增多以及肝脏抗氧化能力失调等,其中氧化应激是其发生发展的重

要因素<sup>[14-15]</sup>。SOD 具有清除超氧阴离子的能力,其活力的高低反映机体抗氧化能力;MDA 是脂质过氧化产物,其含量的增减代表着脂质过氧化作用的强弱,间接反映机体受自由基攻击导致细胞损伤的严重程度。本研究中,模型组小鼠肝组织中的 SOD 水平下降,MDA 含量升高,布渣叶治疗组的小鼠肝组织中 SOD 活性升高,MDA 含量下降,说明布渣叶能减轻 NAFLD 小鼠体内的脂质过氧化水平,提高其抗氧化能力。

脂联素可通过影响肝脏脂肪代谢、炎症因子产生和周围组织对胰岛素的敏感性等抑制 NAFLD 的形成与进展<sup>[5]</sup>。脂联素受体主要包括 Adipo R1, Adipo R2。Adipo R2 主要在肝脏中表达,脂联素与 Adipo R2 结合后可有效的抑制脂质在肝细胞内的堆积<sup>[16]</sup>,而 Adipo R2 与脂联素的亲和力同脂联素敏感性密切相关,因此肝细胞的 Adipo R2 表达将直接影响脂联素作用的敏感性<sup>[17]</sup>。本研究中,模型组小鼠肝组织中 Adipo R2 蛋白表达呈现下降,布渣叶治疗组小鼠肝组织中 Adipo R2 蛋白表达增加,由此可推测布渣叶可能通过对上调脂联素受体的表达来抑制脂肪在肝脏内的堆积。结合以上血脂、氧化应激指标等结果分析,推测上调脂联素受体的表达可能并非是布渣叶对 NAFLD 治疗的唯一通路,布渣叶可能是通过多通路对 NAFLD 进行干预。

总之,本实验用布渣叶水煎剂治疗 NAFLD 模型小鼠,结果显示布渣叶能明显降低模型小鼠血脂、改善肝功能指标、降低肝指数、减轻肝细胞脂肪变性,表明其对 NAFLD 模型小鼠具有降脂、保肝作用,其机制可能与抑制氧化应激反应、增加 Adipo R2 的表达有关。

#### [参考文献]

[1] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(3): 163.

[2] Lonardo A, Byrne C D, Caldwell S H, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: Metaanalytic assessment of Prevalence, Incidence, and outcomes[J]. Hepatology, 2016, 64(4): 1388-1389.

[3] 邱邦东, 臧月, 王生, 等. 鳖甲煎丸改善肠道菌群失调治疗大鼠非酒精性脂肪肝的机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(4): 145-151.

[4] Kim N H, Park J, Kim S H, et al. Non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome and subclinical cardiovascular changes in the general population[J].

- Heart, 2014, 100(12):938-943.
- [ 5 ] 叶瑶,于健. 脂联素及基因多态性与非酒精性脂肪肝的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2014, 34(9): 1285-1288.
- [ 6 ] Tremaroli V, Bckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host Meta-bolism [J]. Nature, 2012, 489(7415):242-249.
- [ 7 ] 秦阳,高颖,高英,等. 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[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(17):144-148.
- [ 8 ] 胡向阳,李安,林春淑,等. 布渣叶水煎剂对非酒精性脂肪肝大鼠血脂及炎症反应影响研究[J]. 实用中医药杂志, 2013, 29(8):624-626.
- [ 9 ] 梁志清,白纪红,赵日红,等. 银杏黄酮对非酒精性脂肪肝模型小鼠的作用及NF- $\kappa$ B在其机制中的相关性分析[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(2): 277-282.
- [ 10 ] 常珊珊,徐济良. 非酒精性脂肪肝发病相关因子的机制研究新进展[J]. 南通大学学报, 2013, 33(1): 56-60.
- [ 11 ] Tan T C, Crawford D H, Jaskowski L A, et al. Altered lipid metabolism in Hfe-knockout mice promotes severe NAFLD and early fibrosis[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2011, 301(5):G865-G876.
- [ 12 ] Ryu J E, Jo W, Choi H J, et al. Evaluation of nonalcoholic fatty liver disease in C57BL/6J mice by using MRI and histopathologic analyses[J]. Comp Med, 2015, 65(5):409-415.
- [ 13 ] 郑全喜,王昆,刘超. 非酒精性脂肪性肝病动物模型的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 357-360.
- [ 14 ] Nobili V, Donati B, Panera N, et al. A 4-polymorphism risk score predicts steatohepatitis in children with nonalcoholic fatty liver disease [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2014, 58(5):632-636.
- [ 15 ] 关丽嫦,高慧亭,徐丽妹. 脂联素和JNK1在非酒精性脂肪肝大鼠中的作用及机制[J]. 实用医学杂志, 2015, 31(12):1915-1917.
- [ 16 ] 叶瑶,于健. 脂联素及基因多态性与非酒精性脂肪肝的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2014, 34(9): 1285-1288.
- [ 17 ] DONG Z, SU L, Esmaili S, et al. Adiponectin attenuates liver fibrosis by inducing nitric oxide production of hepatic stellate cells[J]. J Mol Med, 2015, 93(12): 1327-1339.

[责任编辑 邹晓翠]