

· 药理 ·

吴茱萸碱对高脂血症小鼠脂质代谢的影响

杨奕樱*, 刘明, 胡婧晔, 张曼, 罗英婷, 杨慧云, 赵小琴
(贵州中医药大学, 贵阳 550025)

[摘要] **目的:** 研究吴茱萸碱对高脂血症小鼠脂质代谢及低密度脂蛋白-受体(LDL-R)mRNA表达的影响。**方法:** 昆明种小鼠($n=80$)随机分为正常组($n=20$)和模型组($n=60$)。模型组高脂饲料饲养3周后检测血脂,造模成功后随机分每5组,每组10只,模型组(等量生理盐水)、阳性药组(辛伐他汀 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),给药组(吴茱萸碱 $5.25, 10.5, 21\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),给药3周。苏木素-伊红(HE)染色切片观察小鼠肝细胞结构及主动脉弓粥样改变程度,用酶联免疫试剂盒测试各小鼠血清中总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)与血清总脂联素(ADPN)的含量。采用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)的方法,检测各组小鼠肝脏LDL-R mRNA的表达。**结果:** HE染色切片可见模型组小鼠肝细胞肿胀并伴有脂肪变性,吴茱萸碱高、中剂量及辛伐他汀组可改善肝脏脂肪变性。模型组小鼠主动脉弓管壁有损伤、有明显内膜增厚现象、炎细胞浸润;吴茱萸碱低剂量组内膜增厚明显,高剂量组小鼠主动脉血管壁结构较清晰,少见内皮损伤。与正常组比较,模型组小鼠血清中TC, TG, LDL-C升高, HDL-C水平降低($P<0.01$);与模型组比较,吴茱萸碱中、高剂量组小鼠血清TC, TG水平降低,吴茱萸碱低、中、高剂量组LDL-C降低, HDL-C水平升高($P<0.05, P<0.01$)。与正常组比较,模型组脂联素水平降低,与模型组比较,吴茱萸碱中、高剂量组的血清脂联素水平明显升高($P<0.01$)。与正常组比较,模型组小鼠肝脏LDL-R mRNA的表达明显降低($P<0.01$);与模型组比较,吴茱萸碱中、高剂量组LDL-R mRNA表达明显增强($P<0.01$)。**结论:** 吴茱萸碱能改善高脂血症小鼠肝脏病变、主动脉粥样硬化趋势,可能与通过调节脂联素水平,降低小鼠血脂含量及上调小鼠肝脏LDL-R mRNA的表达有关。

[关键词] 吴茱萸碱; 高脂血症; 脂质代谢; 低密度脂蛋白-受体

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)06-0046-06

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.20200302

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191021.0906.002.html>

[网络出版时间] 2019-10-21 10:43

Effect of Evodia on Lipid Metabolism in Hyperlipidemia Mice

YANG Yi-ying*, LIU Ming, HU Jing-ye, ZHANG Man, LUO Ying-ting, YANG Hui-yun, ZHAO Xiao-qin
(Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of evodia on lipid metabolism and low-density lipoprotein-receptor (LDL-R) mRNA expression in hyperlipidemia mice. **Method:** Kunming mice ($n=80$) were randomly divided into normal control group ($n=20$) and model group ($n=60$). Serum lipids of the model group were measured after 3 weeks. After successful modeling, the mice can be randomly divided into 5 groups (with 10 in each group): model group (equivalent normal saline), positive control group (simvastatin, $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), drug group (evodia of $5.25, 10.5, 21\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). The mice were given drugs for 3 weeks. Htoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the liver cell structure and the change of aortic arch atherosclerosis in the mice. The enzyme linked immunosorbent assay kit was used to test the contents of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and total serum adiponectin (ADPN) in serum of the mice. The expression of LDL-R mRNA in liver of each group was detected by

[收稿日期] 20190703(016)

[基金项目] 贵州省中医药管理局立项课题(QZYY2011-50)

[通信作者] * 杨奕樱, 硕士, 副教授, 从事中医药抗高脂血症及动脉粥样硬化的机制研究, E-mail: yangyiyong586@sina.com

reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Result:** Liver HE staining showed hepatocyte swelling with steatosis in the model group, and alleviated liver steatosis in high-dose, medium-dose evodia and simvastatin groups. HE staining showed damages on the aortic arch wall in the model group, with obvious intima thickening and inflammatory cell infiltration. The intima was thickened obviously in the low-dose group, and the structure of aortic vessel wall was clear in the high-dose group. Compared with the normal group, TC, TG and HDL-C levels in serum of the model group were increased, while HDL-C level was decreased ($P < 0.01$). Serum TC and TG levels of mice in the medium and high-dose groups decreased, whereas LDL-C and HDL-C levels increased in low, medium and high-dose groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the normal group, the adiponectin level in the model group was decreased, while the serum adiponectin levels in medium and high-dose groups were significantly increased ($P < 0.01$). The LDL-R mRNA expression in the liver of mice in the model group was significantly reduced compared with the normal group ($P < 0.01$). The LDL-R mRNA expression in medium and high-dose evodia groups was significantly increased compared with the model group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Evodia can improve the tendency of hepatic lesions and aortic atherosclerosis in hyperlipidemia mice, which may be related to the regulation of adiponectin level, the reduction of lipid content in mice and the up-regulation of LDL-R mRNA expression in mice liver.

[**Key words**] evodia; hyperlipidemia; lipid metabolism; low density lipoprotein receptor (LDL-R)

由于现代生活水平的提高,人们的饮食结构和生活习惯也在产生改变,高脂血症(HLP)的发生率不断增加。高脂血症是指由各种原因导致的血浆中总胆固醇(TC),甘油三酯(TG)和(或)低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)过高和(或)高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)过低的一种代谢性疾病,又称脂代谢异常或紊乱,高脂血症会使动脉粥样硬化加速,是脂肪肝、冠心病、心肌梗死、心脏猝死的重要危险因素^[1]。因此防治高脂血症尤为重要。脂联素是近年来发现的主要由脂肪细胞分泌的一种内源性生物活性蛋白质,具有调节脂质代谢、改善胰岛素抵抗、抑制动脉粥样硬化、保护心血管系统及抗炎等多种功能^[2],与细胞内 LDL 受体(LDL-R)表达密切相关。吴茱萸碱是一种天然吲哚生物碱,是吴茱萸的主要活性成分之一。其具有抗肿瘤、保护心脏、抗炎、镇痛、减肥、降低血脂、降低胆固醇等多种药理学活性^[3-5]。本实验通过给高脂血症小鼠灌胃吴茱萸碱之后,观察小鼠血清的血脂、脂联素水平变化及 LDL-R mRNA 表达,探讨吴茱萸碱调节高脂血症小鼠脂质代谢及其作用机制。

1 材料

1.1 动物 3 月龄健康的 SPF 级昆明种小鼠雌雄各半,重庆腾鑫生物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(渝)2015-0001。动物饲养于贵州医科大学 SPF 级动物实验中心,饲养环境:温度(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 和相对湿度 $55\% \pm 2\%$,自由进食,每日光照/黑暗各 12 h。并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关

怀。本动物实验已获得贵州医科大学伦理委员会批准,批号 1800200。

1.2 药物与试剂 吴茱萸碱(纯度 98%,南京泽朗医药科技有限公司,批号 z120150813);辛伐他汀胶囊(厦门福满药业有限公司,批号 171002);TC, TG, HDL-C, LDL-C 试剂盒(南京建成生物研究所提供,批号分别为 20180927, 20180929, 20180927, 20180927);胆酸(重庆恒泽生物有限公司,批号 20150929);胆固醇(山东欣鼎生物科技有限公司,批号 20170516);苏木素染液、伊红染液(中山金桥生物技术有限公司,批号分别为 20160101, 20160102);脂联素酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(武汉纯度生物科技有限公司,批号 20181112);无 RNA 酶水(北京康为世纪生物科技有限公司,批号 CW0612A);trizol RNA 抽提液,焦碳酸二乙酯(DEPC),M-MuLV 第一链 cDNA 合成试剂盒,DNA 聚合酶,琼脂糖(Agarose),DNA Marker,50 倍 TAE 电泳缓冲液[生工生物工程(上海)股份有限公司提供,批号分别为 B610409, B501005-0100, B532431, B639295, A600014-0050, M1100, B548101-0500]。

1.3 仪器 MULTSKAGO 型酶标仪(美国 Thermo 公司);FA2004 型电子分析天平(德国赛多利斯公司);GNP-9080 型隔水式电热恒温培养箱(苏州威尔实验用有限公司);TD3WS 型离心机(湖南迈达有限公司);X-30R 型高速冷冻离心机(盐城市凯特实验仪器有限公司);G20 型电动组织研磨器[生工生物工程(上海)股份有限公司];Nano-400 型微量

分光光度计(杭州奥盛仪器有限公司);C1000 Touch 型 PCR 仪[伯乐生命医学产品(上海)有限公司];DYY-6C 型电泳槽,DYY-6C 型电泳仪(北京六一仪器厂);hemiDoc 型化学发光全自动凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 分组 将 80 只昆明种小鼠饲养在清洁级动物房内。喂给正常饲料,自由取水,适应性饲养 1 周后将 80 只小鼠随机分为 2 组,20 只作为正常组,60 只作为高脂血症模型组。

2.2 造模方法 正常组喂普通饲料,高脂血症模型组喂高脂饲料。根据文献高脂饲料配方为基础饲料 84%,胆固醇 5%,白糖 5%,猪油 5%,1,2-丙二醇 0.8%,胆酸钠 0.2%,混匀搅拌^[6]。连续喂养 3 周,随机取正常组与高脂饲料组小鼠各 10 只,眼球取血,离心后取血清测量血脂 4 项指标,判断造模成功后,高脂血症组的 50 只小鼠随机分成 5 组,每组 10 只小鼠继续提供高脂饲料。其中 1 组为高脂血症模型组每日给予等量生理盐水;1 组为辛伐他汀组($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),用药剂量相当于成人(以 60 kg 标准体质量计算)每日每公斤体质量最大用量的 15 倍,实验前将药物按剂量比配制混悬液;另外 3 组为吴茱萸碱低、中、高剂量组,根据 2015 年版《中国药典》规定:吴茱萸最大剂量为 $5 \text{ g}^{[7-9]}$,吴茱萸碱提取率约为 10%。动物剂量与体表面积大致成正比,其体表面积可用公式 $A = K \cdot W^{2/3}$ (小鼠按照体质量平均值 0.030 kg)估算,按照动物剂量换算方法^[10],设计低、中、高剂量分别为 5.25, 10.5, 21 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,配制吴茱萸碱混悬液进行灌胃。每天晚上 6:00 后给药,连续 3 周,每次给药需新鲜配制。

2.3 苏木素-伊红(HE)染色 观察肝脏及主动脉弓及病理变化 肝脏切成 1 cm 左右的小方块,主动脉弓切成约 0.2 cm 长。将二者分别置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,进行常规脱水、透化、石蜡包埋、切片,HE 染色。最后镜检组织结构病变。

2.4 血脂检测 取血前给小鼠禁食 12 h,从眼球取血 1.5 mL,静置 30 min 后,4 °C,3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 取血清。按照说明书用 ELLSA 试剂盒测试 TC, TG, LDL-C, HDL-C,使用酶标仪测量各个样本的吸光度 A 并绘制标准曲线计算各指标含量。

2.5 血清总脂联素的测定 使用 ELLSA 脂联素试剂盒进行测定。将放在冰箱保存的待测样品和试剂盒放在常温下平衡 15 min,按照试剂盒说明书进行操作,用纯化的小鼠脂联素捕获抗体包被微孔板,形

成固相抗体,然后分别加入标准品、待测样品和正常对照,然后加入酶在 37 °C 温浴 60 min,经过洗涤后加入底物 TMB 显色(蓝色),随后加入终止液终止反应,使其显黄色。用酶标仪在 450 nm 下检测 A,绘制标准曲线并计算小鼠脂联素的含量。

2.6 总 RNA 的提取 液氮冷冻小鼠肝脏,剪取 50 ~ 100 mg 于 5 mL 离心管中加入 trizol 提取液 1 mL,组织研磨器研磨吸取匀浆,转移到 1.5 mL 离心管中加三氯甲烷 0.2 mL,剧烈振荡 15 s,室温放置 2 ~ 3 s,4 °C 离心,12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$,18 min。小心吸取上层水相于另一心的离心管中,加等体积的异丙醇,颠倒混匀,放置 10 min,4 °C 离心(12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$,18 min),弃上清液加 1 mL 75% 乙醇重悬,4 °C 离心(12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$,8 min),弃上清液,超净台室内温干燥 3 ~ 5 min,加 DEPC 水 50 μL 溶解 RNA 样品待用。测定 RNA 样品浓度,选择 $A_{260 \text{ nm}}/A_{280 \text{ nm}}$ 在 1.8 ~ 2.2 进行逆转录

2.7 逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR) 检测小鼠肝脏 LDL-R mRNA 的表达 PCR 引物设计参照 GenBank 上公布的小鼠 LDL-R 基因序列,由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成引物。内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GADPH)及 LDL-R 引物序列如下表 1。逆转录过程按照试剂盒说明进行,42 °C 60 min,70 °C 5 min 后得 cDNA,取每组 cDNA 1 μL 进行 PCR 反应,总体积为 25 μL ,反应过程如下,94 °C 预变性 3 min 1 个循环,94 °C 30 s,55 °C 30 s,72 °C 50 s,30 个循环,72 °C 延伸 8 min。琼脂糖凝胶电泳取 RT-PCR 产物 5 μL ,1.2% 的琼脂糖,50 倍 TAE 配制成 TAE 的缓冲液,加入 0.8 μL 的核酸染料,121 V 恒流电压跑胶 60 min。全自动凝胶成像系统对其进行拍照和定量扫描,分析软件 Image J 分析 RT-PCR 结果。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

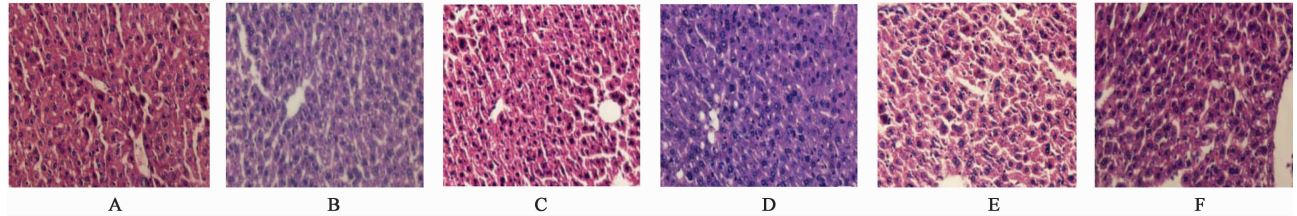
引物	序列(5'-3')	长度/bp
LDL-R	上游 TGCCGTCCTTCTGCCTG	170
	下游 ACCGTGCTGGCTTCCT	
GADPH	上游 GGTGTCTCTCGCACTCA	183
	下游 TGTCACAGGTTTCTTACTCC	

2.8 统计学方法 使用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对高脂血症小鼠肝组织病理学的影响 正常组肝小叶正常,肝细胞排列整齐、体积正常,形状较为规则;模型组肝细胞肿大且有炎性细胞浸润,肝细胞浆内出现大小不等、数量不一的圆形空泡(脂滴),

肝小叶的中央带和中间带改变较明显,脂肪变性较明显,说明实验造模成功。吴茱萸碱低剂量组肝细胞结构不清晰,有少量脂滴。吴茱萸碱高、中剂量和辛伐他汀组肝小叶的正常结构部分保留且肝细胞、少见脂肪变性。见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C. 辛伐他汀组;D. 吴茱萸碱低剂量组;E 吴茱萸碱中剂量组;F 吴茱萸碱高剂量组(图 2~3 同)

图 1 吴茱萸碱对高脂血症小鼠肝组织病理学的影响(HE, ×400)

Fig. 1 Effect of evocorine on liver histopathology of hyperlipidemia mice(HE, ×400)

3.2 对高脂血症小鼠主动脉弓病理学的影响 正常组小鼠动脉血管壁结构清晰,内皮细胞及平滑肌细胞排列规则,轮廓清晰;模型组小鼠动脉弓管壁有损伤、有明显的内膜增厚现象、炎细胞浸润并有粥样

斑块改变;与模型组比较,辛伐他汀组主动弓管壁内皮有损伤,吴茱萸碱低剂量组主动脉弓管壁内皮有损伤,内膜增厚现象,吴茱萸碱中、高剂量组小鼠主动脉血管壁结构较清晰,无内皮损伤。见图 2。

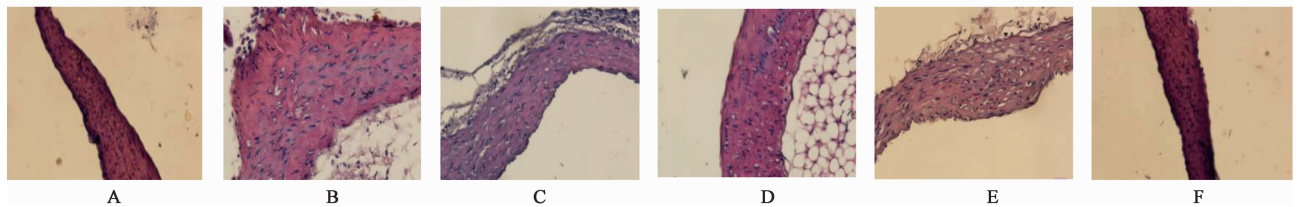


图 2 吴茱萸碱对高脂血症小鼠主动脉弓病理学影响(HE, ×400)

Fig. 2 Effect of evocorine on aortic arch pathology in hyperlipidemia mice(HE, ×400)

3.3 对高脂血症小鼠血脂的影响 与正常组比较,模型组小鼠 TC, TG, LDL-C 水平升高, HDL-C 的水平明显降低($P < 0.01$)。与模型组比较,辛伐他汀组小鼠血清中 TG, LDL-C 的水平降低, HDL-C 的水

平显著升高($P < 0.01$)。吴茱萸碱组中、高剂量组的 TG, TC 水平降低,吴茱萸碱低、中、高剂量组的 HDL-C 水平升高,吴茱萸碱低、中、高剂量组 LDL-C 的水平降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

表 2 吴茱萸碱对高脂血症小鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of evodia on serum lipids in hyperlipidemia mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TG	TC	HDL-C	LDL-C
正常	-	3.90 ± 1.42	21.32 ± 6.64	2.69 ± 0.05	3.08 ± 1.12
模型	-	$8.78 \pm 3.06^{2)}$	$27.35 \pm 4.88^{2)}$	$1.76 \pm 0.03^{2)}$	$6.50 \pm 1.32^{2)}$
辛伐他汀	5×10^{-3}	$6.78 \pm 2.43^{3)}$	23.30 ± 6.75	$2.00 \pm 0.23^{4)}$	$3.54 \pm 0.11^{4)}$
吴茱萸碱	5.25×10^{-3}	6.05 ± 3.70	29.50 ± 6.00	$1.88 \pm 0.16^{3)}$	$3.30 \pm 1.48^{3)}$
	10.5×10^{-3}	$5.73 \pm 1.61^{4)}$	$24.97 \pm 7.88^{3)}$	$2.06 \pm 0.15^{4)}$	$2.91 \pm 1.39^{4)}$
	21×10^{-3}	$5.85 \pm 1.40^{4)}$	$21.45 \pm 6.82^{3)}$	$2.63 \pm 0.16^{4)}$	$3.06 \pm 0.44^{4)}$

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 3,4 同)。

3.4 对高脂血症小鼠血清中总脂联素的影响 与正常组比较,模型组血清总脂联素显著降低($P <$

0.01);与模型组比较,辛伐他汀组小鼠血清总脂联素含量明显升高($P < 0.01$);吴茱萸碱中、高剂量组

的脂联素水平显著升高 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 吴茱萸碱对高脂血症小鼠血清中总脂联素的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 3 Effect of evocorine on total adiponectin in serum of hyperlipidemia mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	脂联素/ $ng \cdot L^{-1}$
正常	-	1 683.21 \pm 421.46
模型	-	1 319.72 \pm 387.07 ²⁾
辛伐他汀	5×10^{-3}	1 998.69 \pm 175.62 ⁴⁾
吴茱萸碱	5.25×10^{-3}	1 508.21 \pm 178.58 ⁴⁾
	10.5×10^{-3}	1 811.78 \pm 122.82 ⁴⁾
	21×10^{-3}	1 909.40 \pm 187.38 ⁴⁾

3.5 对高脂血症小鼠肝脏 LDL-R mRNA 表达水平的影响 与正常组比较,模型组 LDL-R mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,辛伐他汀组 LDL-R mRNA 表达显著增高 ($P < 0.01$),吴茱萸碱低剂量组表达水平无显著差异,吴茱萸碱中、高剂量组肝脏组织中 LDL-R mRNA 表达也显著增高 ($P < 0.01$)。见图 3,表 4。

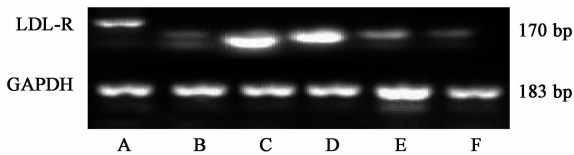


图 3 小鼠 LDL-R mRNA 表达电泳
Fig. 3 Electrophoresis of LDL-R mRNA expression level in each mice

表 4 吴茱萸碱对高脂血症小鼠 LDL-R mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of evocorine on expression level of LDL-R mRNA in hyperlipidemia mice by evodia ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	LDL-R/GAPDH
正常	-	0.643 \pm 0.285
模型	-	0.281 \pm 0.004 ²⁾
辛伐他汀	5×10^{-3}	0.319 \pm 0.089
吴茱萸碱	5.25×10^{-3}	0.336 \pm 0.053
	10.5×10^{-3}	0.587 \pm 0.047 ⁴⁾
	21×10^{-3}	0.603 \pm 0.074 ⁴⁾

4 讨论

高脂血症在中医里可归属为“痰浊”“胸痹”“中风”等范畴,其形成与嗜食肥甘厚腻,伤及脾胃,脾失健运及情志不舒,累及肝胆,肝失疏泄密切相关^[11-12]。脾胃功能障碍,气津不化,运行失调,壅塞阻滞中焦,导致气机不畅,血行受阻,凝聚脉道,停积成痰。并认为津液代谢失常是高脂血症形成的主要机制,痰凝血瘀是其外在形态,本虚标实是其内在本

质气机失调是其形成的关键^[13]。西医采用他汀类治疗高脂血症,但是他汀类药物在实际应用中不良反应较多,比如肝毒性、消化系统、泌尿系统反应等,影响患者的治疗安全,需要与其他药配伍使用来减少不良反应的发生^[14]。中医常常把吴茱萸单用或者与其他药物联合使用来治疗“高脂血症”,本课题组前期研究发现吴茱萸碱能有效降低小鼠血脂水平、血液黏稠度,特别是在抗氧化和抗炎作用方面有其独特优势^[15-16]。

本研究以高脂饲料饲养构建昆明种小鼠高脂血症模型,辛伐他汀作阳性对照药物,观察小鼠肝脏、主动脉弓 HE 染色切片、血脂 (TG, TC, LDL-C, HDL-C 值)。从实验结果可见:吴茱萸碱中、高剂量组有明显改善肝脏脂肪变性、主动脉弓粥样改变的作用,同时 TG, TC, LDL-C 比模型组有了明显的降低,而 HDL-C 值有显著的升高,降脂作用随着剂量的增加而更加明显。另外,从表 3 可知,给药组中、高剂量组的血清脂联素水平明显升高,提示吴茱萸碱能够促进脂联素水平的升高,且随着剂量的加大,作用越明显。

脂联素 (APN) 是脂肪细胞分泌的一种内源性生物活性多肽或蛋白质。是一个与体脂含量呈负相关的脂肪细胞因子,是脂肪组织基因表达最丰富的蛋白质产物之一,大量存在于血液循环中。脂联素的单聚体和三聚体是其生物活性形式或受体亲和配基可以特异性结合骨骼肌或肝脏细胞膜上的 G 蛋白耦联受体一型或二型脂联素受体,进而调节脂肪酸氧化和糖代谢^[17-18]。低脂联素血症日渐成为心血管疾病的独立危险因素。高水平的 TG 和 C 反应蛋白 (CRP) 与低脂联素水平相关。在实验性动脉粥样硬化模型中,血浆脂联素水平与 TG 和低密度脂蛋白 (LDL) 成负相关关系,与高密度脂蛋白 (HDL) 成正相关关系。脂联素还可以降低多种黏附分子在内皮细胞的表达。另外脂联素对血小板衍生生长因子 (PDGF) 诱导的血管平滑肌的增殖和迁移有重要的抑制效应。另有研究显示脂联素可以干预血管平滑肌细胞 (VSMCs) 泡沫细胞,泡沫细胞数量明显减少,胆固醇含量显著下降,说明其能抑制 VSMCs 泡沫化,有一定的抗动脉粥样硬化作用^[19]。因此观察吴茱萸碱对高脂血症小鼠脂联素含量的影响可以反映该药物成分在影响脂质代谢抗动脉粥样方面的作用及其机制。基于脂联素水平和血脂 (TG, LDL, HDL) 的相关性,故以小鼠血清中总脂联素含量及肝脏 LDL-R mRNA 表达为切入点,探讨吴茱萸碱对高脂血症小鼠改善脂质代谢的作用机制。

与正常组比较,模型组 LDL-R 表达显著降低,吴茱萸碱高、中剂量组 LDL-R 表达比模型组明显升高,推测吴茱萸碱上调肝脏中 LDL-R 的表达,使 LDL-C 与 LDL-R 结合率增加,降低了血清中 LDL-C 的含量。LDL-C 是血浆胆固醇的运输的载体,是引起动脉粥样硬化、冠心病等的主要危险因素,LDL-C 过多能引起细胞内的胆固醇酯的堆积,进而引起动脉粥样硬化。综合血清脂联素含量与肝脏 LDL-R mRNA 表达的实验结果,可以看出脂联素水平,LDL-R 表达和 LDL-C 含量均呈负相关,这两者在共同作用下调节高脂血症小鼠的血脂水平,脂质代谢异常得到改善。

通过吴茱萸碱干预不但可以降低血脂,还可显著提高血清脂联素浓度,其机制尚不明确,可能与减轻动脉斑块部位炎症反应,进而减少脂联素的消耗有关^[20]。目前研究认为的降血脂的两个途径,一是肝脏的 LDL 清除途径,二是 LDL 介导胆固醇摄取途径。LDL-R 数量的多少决定了清除 LDL 的快慢^[21-22]。通过 LDL-C 与 LDL-R 的结合,LDL-C 被水解成氨基酸和游离胆固醇,使得 LDL-C 的含量下降,而游离胆固醇可以作用于 HMG CoA 还原酶,从而抑制胆固醇的生成,使血浆中的胆固醇含量减少,达到降血脂的目的。如果体内的 LDL-R 失调,不仅会使 LDL-C 的清除减慢,反而增加 LDL-C 生成,最终导致血液中 LDL-C 含量升高。

综上所述,吴茱萸碱对高脂血症小鼠的脂质代谢有良好的改善作用,其机制可能与增强脂联素含量和 LDL-R mRNA 表达水平,促进脂质代谢有关。

[参考文献]

[1] 中国胆固醇教育计划血脂异常防治建议专家组. 中国胆固醇教育计划血脂异常防治专家建议[J]. 全科医学临床与教育, 2015, 13(1): 3.

[2] 胡晓菡, 王丽, 张葵, 等. 脂联素的研究进展及与多种疾病的关系[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(23): 4563-4565.

[3] 刘雪珂, 王海燕, 刘億, 等. 吴茱萸碱对高尿酸血症动物模型的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(4): 860-863.

[4] 周昕, 魏宏, 沈涛, 等. 小檗碱与吴茱萸碱配伍对高胆固醇血症大鼠小肠 ACAT2、ApoB48 和 NPC1L1 表达的影响[J]. 中成药, 2017, 37(10): 1993-1999.

[5] 刘鑫, 杨丽, 毕莹, 等. 吴茱萸碱作用 mTOR 信号通路引起胃癌 SGC-7901 细胞凋亡的研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(16): 3262-3266.

[6] 梁红峰, 陈方. 高脂血症模型小鼠生化指标的变化

[J]. 广东微量元素科学, 2004, 11(4): 42-44.

[7] 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: 171.

[8] 陶兆燕, 程媛, 唐熠, 等. 吴茱萸碱对高尿酸血症动物模型的影响[J]. 中药与临床, 2014, 5(2): 69-71.

[9] 林淑娴, 任丽娜, 孙安盛. 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸总碱的小鼠急性毒性[J]. 遵义医学院学报, 2015, 38(2): 146-149.

[10] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.

[11] 李若绮, 石晶晶, 鲁海菲, 等. 双黄调脂汤对高脂血症模型大鼠小肠组织 NPC1L1 及 ABCG8 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(14): 77-83.

[12] 陈丝, 贾连群, 宋园, 等. 香砂六君子汤对脾虚高脂血症大鼠 dyHDL 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 22-28.

[13] 周强, 张声生. 从临床研究文献分析非酒精性脂肪性肝病常用治法要素和中药用药规律[J]. 北京中医药, 2016, 35(5): 484-486.

[14] 耿傲蕾. 他汀类药物治疗高脂血症的临床应用评价及效果分析[J]. 中国实用医药, 2019, 14(1): 103-104.

[15] 任妮娜, 杨奕樱. 吴茱萸碱对动脉粥样硬化大鼠抗炎抗氧化作用研究[J]. 贵阳中医学院学报, 2018, 40(2): 21-26.

[16] 张秋方, 杨奕樱, 陈洪, 等. 吴茱萸碱对高脂血症小鼠血脂水平及血液粘稠度的影响[J]. 河南中医, 2017, 37(1): 72-74.

[17] SHEHZAD A, IQBAL W, SHEHZAD O, et al. Adiponectin: regulation of its production and its role in human diseases[J]. Hormones (Athens), 2012, 11(1): 8-20.

[18] 吕宝伟, 冯春青, 孙建光. 补肾降浊饮对非酒精性脂肪肝大鼠胰岛抵抗的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(12): 107-113.

[19] 姜成, 张丹, 刘立志, 等. 脂联素通过 PKC/RACK1 途径抑制血管平滑肌细胞泡沫化[J]. 国际免疫学杂志, 2019, 42(2): 147-151.

[20] 杨登峰. 阿托伐他汀对无症状性冠心病患者血清脂联素及血管内皮功能的影响[J]. 山西职工医学院学报, 2019, 29(1): 91-92.

[21] 吴限, 吴晗, 孙靖亮, 等. 心脑血管液对动脉粥样硬化兔 LDL-mRNA 和 VCAM-1 mRNA 表达的影响[J]. 云南中医中药杂志, 2016, 37(2): 19-22.

[22] 刘中勇, 李林, 方家. 调脂 I 号方对动脉粥样硬化大白兔血清炎症因子及腹主动脉 LDL-R、VCAM-1 mRNA 表达的影响[J]. 中医杂志, 2017, 58(23): 2049-2053.

[责任编辑 周冰冰]