

黄芪散对高脂饮食诱导肥胖大鼠肝脏 内质网应激信号通路的影响

李艳^{1,2,3}, 曹美群^{2,3}, 陶文聪¹, 李卫民⁴, 罗焕敏¹, 吴正治^{2,3*}

(1. 暨南大学 中西医结合博士后流动站, 广州 510632;

2. 深圳市老年医学研究所, 广东 深圳 518035;

3. 深圳大学 第一附属医院 (深圳市第二人民医院), 广东 深圳 518035;

4. 广州中医药大学 中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:观察黄芪散对高脂饮食诱导的肥胖大鼠肝脏内质网应激信号通路的影响,并探讨其机制。方法:选择雄性 SD 大鼠,通过高脂饲料连续喂养 7 周建立肥胖大鼠模型后,将其随机分为模型组,黄芪散低、高剂量组(1.2, 2.4 g·kg⁻¹),立普妥组(2 mg·kg⁻¹),模型组和正常组给予等量生理盐水,灌胃给药,连续 15 周。分别测定各组大鼠的体质量、附睾脂肪系数、肝脏系数;采用生化试剂测定血浆空腹血糖(FPG),总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的水平;采用苏木素-伊红(HE)染色法观察各组大鼠附睾脂肪及肝脏病理变化;同时采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝组织中固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c),蛋白激酶 R 样内质网激酶(PERK),肌醇依赖酶 1 α (IRE1 α),磷酸化 IRE1 α (p-IRE1 α)的蛋白表达水平。结果:与正常组比较,模型组大鼠的体质量和肝脏系数显著升高($P < 0.01$);FPG,TC,TG,LDL-C 水平均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。模型组大鼠的脂肪细胞和肝细胞体积明显增大,细胞中可见大量脂肪小泡。同时肝组织中内质网应激相关因子 SREBP-1c,PERK,IRE1 α ,p-IRE1 α 的蛋白表达明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较,黄芪散高、低剂量组均能明显降低肥胖大鼠的体质量、附睾脂肪系数、肝脏系数和糖脂水平($P < 0.05$, $P < 0.01$),且能明显改善附睾脂肪和肝脏的病变程度。黄芪散高、低剂量组及立普妥组大部分可不同程度地降低肝组织中 SREBP-1c,PERK,IRE1 α /p-IRE1 α 的蛋白表达水平($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:黄芪散具有调节糖脂代谢、保护肝脏和减轻体质量的作用,其机制可能与调控肝脏内质网应激相关因子 SREBP-1c,PERK,IRE1 α /p-IRE1 α 的蛋白表达有关。

[关键词] 肥胖;黄芪散;内质网应激;信号通路

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)21-0006-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191901

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190617.1338.020.html>

[网络出版时间] 2019-06-19 14:53

Effect of Huangqisan on Endoplasmic Reticulum Stress Signaling Pathway in Liver Tissues of High-fat Diet-induced Obese Rats

LI Yan^{1,2,3}, CAO Mei-qun^{2,3}, TAO Wen-cong¹, LI Wei-min⁴, LUO Huan-min¹, WU Zheng-zhi^{2,3*}

(1. *Integrated Chinese and Western Medicine Postdoctoral Research Station,*

Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2. *Shenzhen Municipal Institute of Geriatrics, Shenzhen 518035, China;*

[收稿日期] 20190313(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81803867,81574038);广东省科技计划项目(2018A0303130078,2015B020211001);中国博士后科学基金面上项目(2017M622920);深圳市医疗卫生三名工程项目(SZSM201612049);深圳市学科布局项目(JCYJ20180508152437368,JCYJ20170412161254416,JCYJ20170413161352000);国家高技术研究发展技术(863)项目(2014AA020907)

[第一作者] 李艳,博士,助理研究员,从事中药新药的研究与开发,E-mail:apple2014yan@126.com

[通信作者] * 吴正治,博士,教授,从事老年神经系统疾病中西医结合研究,Tel:0755-82530086,E-mail:szwz001@163.com

3. *The First Affiliated Hospital of Shenzhen University (Shenzhen Second People's Hospital), Shenzhen 518035, China;*
4. *School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)*

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Huangqisan on endoplasmic reticulum stress signaling pathway in liver tissues of high-fat diet-induced obese rats and its mechanisms. **Method:** Male SD rats were selected and fed with high-fat diet for 7 weeks continuously to establish an obese rat model. Then, the rats were randomly divided into model group, low and high-dose Huangqisan group ($1.2, 2.4 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and Lipitor group ($2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), and orally administered with drugs for 15 consecutive weeks. The control group and the model group were perfused with the same volume of normal saline. The body weight, epididymal fat coefficient and liver coefficient of each group were determined separately. Fasting plasma glucose (FPG), total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were determined by biochemical reagent method. The epididymal visceral adipose tissue and liver pathological changes were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining. And the protein expression levels of sterol regulation element-binding transcription factor 1 (SREBP-1c), protein kinase R (PKR) -like endoplasmic reticulum kinase (PERK), inositol requiring enzyme 1 (IRE1 α), p-inositol requiring enzyme 1 (p-IRE1 α) in liver tissues were detected by Western blot methods. **Result:** Compared with the control group, the body weight, epididymal fat coefficient and liver coefficient of the model group were significantly increased ($P < 0.01$), and the levels of FPG, TC, TG and LDL-C were also higher than those of the control group ($P < 0.05, P < 0.01$). The cell volume of epididymal fat and liver in the model group were enlarged, and numerous fat vesicles were observed in the cells. Meanwhile, the protein expression levels of the endoplasmic reticulum stress-related factors SREBP-1c, PERK, IRE1 α /p-IRE1 α were increased ($P < 0.05, P < 0.01$). Compared with the model group, high-dose and low-dose Huangqisan groups could significantly reduce the body weight, epididymal fat coefficient, liver coefficient and levels of glucose and lipid ($P < 0.05, P < 0.01$), and pathological examination showed that the lesion degrees of epididymal fat and liver tissues were alleviated obviously. In addition, Huangqisan could mostly reduce SREBP-1c, PERK, IRE1 α /p-IRE1 α protein expression levels to different degrees ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusion:** Huangqisan could regulate the glucose and lipid metabolism, alleviate liver pathology and reduce body weight, and its mechanism was probably related to reduction of SREBP-1c, PERK, IRE1 α /p-IRE1 α proteins expression levels.

[Key words] obesity; Huangqisan; endoplasmic reticulum stress; signaling pathway

肥胖正逐渐成为一个越来越严重的问题。最新研究表明,腹部内脏脂肪过度堆积会导致病态肥胖,更易增加患各种慢性疾病的危险^[1]。据统计,截止至 2014 年全球共有 6 亿肥胖患者,预计到 2025 年可能全球会有 1/5 的成年人受到肥胖的困扰^[2]。随着肥胖患病率的增高,其他疾病如非酒精性脂肪肝、心脑血管疾病、糖尿病、骨质疏松以及肿瘤等的患病率也呈明显的增加趋势^[3-4]。因此,肥胖病正严重影响着人类健康,是当今世界上最主要的公共健康问题之一。越来越多的研究证实,内质网应激是多种疾病的病理生理基础。在病理状态下,当血糖和能量改变、蛋白质合成增加、蛋白质糖基化障碍及内质网内钙稳态失调时,内质网的功能出现紊乱,导致蛋白质折叠障碍和错误折叠,进而触发内质网应激(ERs)。出自北宋《济世总录》的黄芪散[黄芪-葛

根-桑白皮(1:2:1)]是治疗消渴病的古方,全方由黄芪、葛根、桑白皮 3 味中药组成,益气健脾,生津止渴,三消共治^[5]。前期研究结果证明黄芪散可改善糖脂代谢,尤其降脂、护肝作用表现突出,可显著改善肝内脂质沉积和肝脏病变,血中脂质[总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)]和肝内脂质(TG,TC)明显下降^[6]。但是作为多成分、多靶点中药,其降脂护肝的具体作用机制尚未阐明,尤其是否通过内质网应激途径发挥药效作用尚未见文献报道,仍有待进一步研究揭示。因此,本实验以高脂饮食诱导的肥胖大鼠为模型,研究黄芪散肝脏内质网应激相关因子固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c),蛋白激酶 R 样内质网激酶(PERK),肌醇依赖酶 1 α (IRE1 α),磷酸化 IRE1 α (p-IRE1 α)的影响,从分子水平上探讨其作用机制,

以期为临床应用提供更多的实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠, 雄性, 体质量 180 ~ 220 g, SPF 级, 购于广东省医学实验动物中心, 合格证号 SCXK (粤)2013-0002。动物饲养于广东药学院实验动物中心 SPF 级动物房, 饲养温度与湿度依次为 (24 ± 2) °C, 50% ~ 70%, 采用 12 h : 12 h 昼夜间断照明; 自由进食饮水。本实验研究所涉及的所有动物相关操作均经广东药科大学动物伦理委员会批准 (批准号 gdpulac2016033)。

1.2 饲料 高脂饲料, 广东省医学实验动物中心。依据《保健食品检验与评估技术规范》要求, 高脂饲料配方为蔗糖 20%, 猪油 15%, 胆固醇 1.2%, 胆酸钠 0.2%, 酪蛋白 10%, 磷酸氢钙 0.6%, 石粉 0.4%, 预混料 0.4%, 基础饲料 52.2%。基础饲料由广东药科大学实验动物中心提供。

1.3 药物与试剂 黄芪散提取物, 其制备方法参考文献[7]。黄芪、葛根、桑白皮药材, 均购自广州中医药大学大药房有限公司, 由广州中医药大学高英主任中药师鉴定分别为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 的干燥根、豆科植物野葛 *Pueraria lobata* 的干燥根、桑科植物桑 *Morus salba* 除去栓皮的干燥根皮。葡萄糖 (Glu), TC, TG, LDL-C 试剂盒 (上海荣盛生物药业有限公司, 批号分别为 20160402147, 20160402146, 20160402121, 20160201124); PERK 抗体 (美国 CST 公司, 货号 3192S); IRE1 α , p-IRE1 α , SREBP-1c 抗体 (英国 Abcam 公司, 批号分别为 GR82255-18, GR277239-1, GR287851-1); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体 (上海康成生物工程有限公司, 批号 KC-5G5); 辣根过氧化物酶 (HRP)-羊抗兔和 HRP-羊抗鼠标记二抗 (杭州联科生物技术股份有限公司, 批号分别为 5104043, 5103938)。

1.4 仪器 RT-2100C 型自动酶标仪 (美国赛默飞世尔科技公司); 1-15k 型冷冻离心机 (上海天美科学仪器有限公司); Tanon5200 型化学发光成像系统 (上海天能化学发光工作站); Mini-Protean Tetra 型 SDS-PAGE 垂直电泳槽及转膜仪 (美国 Bio-Rad 公司); BK-DM500 型数码生物显微镜 (重庆奥特光学仪器有限公司); SW-CJ 型超净工作台 (苏州净化设备有限公司)。

2 方法

2.1 分组与给药 雄性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后, 留取 6 只作为正常组大鼠, 基础饲料喂养, 其他

大鼠采用高脂饲料连续喂养 7 周后, 检测体质量变化和血脂水平。筛选 30 只造模成功的大鼠按照体质量及血脂水平随机分组, 分别为模型组、黄芪散低、高剂量组 (1.2, 2.4 g · kg⁻¹) 及立普妥组 (2 mg · kg⁻¹), 开始给药, 药物剂量设定参照前期研究基础。正常组和模型组大鼠给予等量的生理盐水, 各给药组给予相应受试药物, 每日 1 次, 连续给药 15 周。

2.2 样本采集和指标检测 实验过程中每周称体质量 1 次。在给药 14 周末, 禁食不禁水 12 h, 乙醚麻醉, 眼底静脉丛取血, 肝素抗凝, 4 °C 离心 (3 000 r · min⁻¹, 15 min) 分取血浆, 采用生化试剂盒测定空腹血糖 (FPG), TC, TG, LDL-C 水平; 实验结束时, 处死动物, 迅速取出附睾脂肪、肝脏, 称质量, -80 °C 冷冻保存。计算附睾脂肪系数和肝脏系数, 即实验动物的某脏器的质量与其体质量之比。

2.3 附睾脂肪、肝脏形态学观察 剪取适量附睾脂肪组织、肝组织置于 10% 的甲醛溶液中固定, 常规石蜡包埋, 切片, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 光镜下观察附睾脂肪、肝脏病理变化程度。

2.4 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 测定肝组织中内质网应激相关因子 SREBP-1c, PERK, IRE1 α , p-IRE1 α 的蛋白表达水平 各组大鼠肝组织称质量适量, 在冰上剪成细小碎片并充分匀浆裂解, 按照每 20 mg 组织加入 150 ~ 250 μ L 裂解液 (蛋白酶抑制剂 PMSF 浓度为 1 mmol · L⁻¹) 的比例加入裂解液。用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。然后低温离心 (12 000 × g, 15 min), 吸取上清, 二喹啉甲酸 (BCA) 法测定蛋白浓度, -80 °C 冻存储备。10% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白样品, 用 TBS (三乙醇胺缓冲盐水溶液) 漂洗 1 次。加入封闭缓冲液, 置于振荡摇床中进行封闭 (室温, 80 r · min⁻¹, 1 h)。弃封闭液, 采用 5% BSA 封闭液稀释一抗 (1:1 000), 置于 4 °C 杂交过夜。次日早上回收一抗杂交液, 用 TBST 洗膜 3 次 (置于振荡摇床中, 室温, 80 r · min⁻¹, 10 min/次)。弃 TBST, 二抗 (1:5 000) 用 5% BSA 稀释至适当浓度, 加入 5 mL, 置于振荡摇床中进行杂交 (室温, 80 r · min⁻¹, 1 h)。弃二抗溶液, 用 TBST 洗膜 3 次 (置于摇床中, 室温, 80 r · min⁻¹, 10 min/次)。根据膜的大小, 适量滴加发光试剂 ECL 工作液到膜上, 放置 1 min。利用凝胶成像系统采集图像, Image Pro Plus 6.0 软件进行图像分析。

2.5 统计学方法 采用 StatView 4.5 软件进行统计

学处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用方差分析中的 Fisher's LSD,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 造模 7 周后肥胖大鼠的体质量及血脂水平变化 高脂喂养 7 周末,与正常组比较,模型组大鼠的体质量显著升高 ($P < 0.01$),此时模型组大鼠体质量较正常组大鼠体质量增长 20.0%。与正常组比较,模型组大鼠的 TC, TG, LDL-C 水平均明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$),表明肥胖大鼠模型复制

成功。见表 1。

3.2 对肥胖大鼠体质量、附睾脂肪系数、肝脏系数的影响 与正常组比较,模型组大鼠的体质量和肝脏系数显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,黄芪散高、低剂量均可明显降低大鼠体质量、附睾脂肪系数和肝脏系数 ($P < 0.05, P < 0.01$),而立普妥组大鼠的体质量、附睾脂肪系数和肝脏系数却没有显著降低。表明黄芪散可有效控制大鼠体质量和保护肝脏,且作用效果优于立普妥。见表 2。

表 1 造模 7 周后大鼠的体质量及血脂水平结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Results of body weight and blood lipid levels after 7 weeks ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体质量/g		血脂/mmol·L ⁻¹		
		0 周末	7 周末	TC	TG	LDL-C
正常	6	233.89 ± 20.69	481.52 ± 32.14	2.33 ± 0.17	0.91 ± 0.13	1.41 ± 0.13
模型	30	225.11 ± 14.19	578.06 ± 42.31 ²⁾	2.58 ± 0.33 ¹⁾	1.07 ± 0.14 ¹⁾	1.83 ± 0.29 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

表 2 黄芪散对肥胖大鼠体质量、附睾脂肪系数、肝脏系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Huangqisan on body weight, epididymal coefficient fat and liver coefficient in obesity rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	体质量/g		附睾脂肪系数/%	肝脏系数/%
			给药 0 周	给药 15 周		
正常	6	-	481.52 ± 32.14	651.65 ± 27.38	2.04 ± 0.47	2.64 ± 0.21
模型	6	-	582.32 ± 44.16 ²⁾	781.13 ± 67.73 ²⁾	2.60 ± 0.49	4.13 ± 0.68 ²⁾
立普妥	8	0.002	579.40 ± 47.21	758.73 ± 72.17	2.68 ± 0.46	3.77 ± 0.51
黄芪散	8	1.2	576.43 ± 34.22	646.36 ± 40.44 ⁴⁾	1.62 ± 0.46 ⁴⁾	3.51 ± 0.16 ³⁾
	8	2.4	574.10 ± 49.54	635.65 ± 47.94 ⁴⁾	1.38 ± 0.19 ⁴⁾	3.56 ± 0.34 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 3~4 同)。

3.3 对肥胖大鼠血糖、血脂水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠的 FPG, TC, TG, LDL-C 水平均明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组比较,黄芪

散高、低剂量组及立普妥组大鼠的 FPG, TC, TG, LDL-C 水平均明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$),且黄芪散对糖脂水平的降低呈剂量依赖性。见表 3。

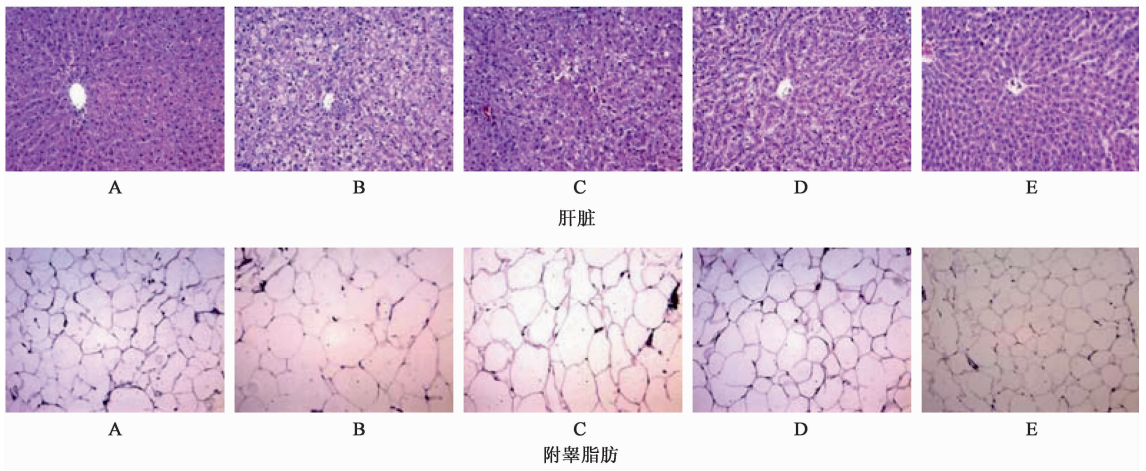
表 3 黄芪散对肥胖大鼠血糖、血脂水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Huangqisan on blood glucose and lipid in obesity rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	FPG	TC	TG	LDL-C
正常	6	-	7.21 ± 0.42	2.13 ± 0.14	0.87 ± 0.21	1.51 ± 0.36
模型	6	-	8.82 ± 0.44 ¹⁾	2.84 ± 0.19 ¹⁾	1.20 ± 0.26 ¹⁾	2.51 ± 0.31 ²⁾
立普妥	8	0.002	6.98 ± 0.73 ⁴⁾	2.21 ± 0.37 ³⁾	0.85 ± 0.24 ³⁾	1.55 ± 0.37 ⁴⁾
黄芪散	8	1.2	6.53 ± 0.84 ⁴⁾	1.86 ± 0.34 ⁴⁾	0.75 ± 0.18 ⁴⁾	1.01 ± 0.19 ⁴⁾
	8	2.4	6.09 ± 0.78 ⁴⁾	1.53 ± 0.45 ⁴⁾	0.81 ± 0.19 ³⁾	0.95 ± 0.19 ⁴⁾

3.4 对肥胖大鼠肝脏、附睾脂肪病理状态的影响 正常组大鼠的肝小叶中肝细胞未见肿胀和脂肪变性。模型组大鼠的肝小叶中肝细胞发生明显的脂肪变性,肝细胞中可见大量脂肪小泡,肝细胞体积

明显增大,且附睾脂肪细胞体积明显增大。与模型组比较,黄芪散高、低剂量组的肝细胞、附睾脂肪细胞病变程度明显减轻,均以高剂量组减轻程度更明显,且作用效果优于立普妥。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 立普妥组; D. 黄芪散低剂量组; E. 黄芪散高剂量组(图 2 同)

图 1 黄芪散对肥胖大鼠肝脏、附睾脂肪病理状态的影响(HE, ×100)

Fig. 1 Effect of Huangqisan on pathologic changes of liver and epididymal fat in rats(HE, ×100)

3.5 对肥胖大鼠肝脏 SREBP-1c, PERK, IRE1α, p-IRE1α 蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠肝脏组织中 SREBP-1c, PERK, IRE1α, p-IRE1α 的蛋白水平均显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 黄芪散高、低剂量组 SREBP-1c, PERK, IRE1α/p-IRE1α 蛋白水平大部分明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$), 对 SREBP-1c, PERK 的降低呈剂量依赖性, 以上提示黄芪散可改善肝脏内质网应激水平。见图 2, 表 4。

表 4 黄芪散对肥胖大鼠肝脏组织中 SREBP-1c, PERK, IRE1α 和 p-IRE1α 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of Huangqisan on protein expressions of SREBP-1c, PERK, IRE1α and p-IRE1α in rats($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	PERK /GAPDH	SREBP-1c /GAPDH	IRE1α /p-IRE1α
正常	-	0.24 ± 0.02	0.33 ± 0.17	0.45 ± 0.07
模型	-	1.00 ²⁾	1.00 ²⁾	1.00 ²⁾
立普妥	0.002	0.61 ± 0.22 ³⁾	0.44 ± 0.20 ³⁾	0.42 ± 0.12 ³⁾
黄芪散	1.2	0.50 ± 0.07 ³⁾	0.78 ± 0.22	0.21 ± 0.10 ⁴⁾
	2.4	0.46 ± 0.20 ³⁾	0.46 ± 0.19 ³⁾	0.27 ± 0.11 ⁴⁾

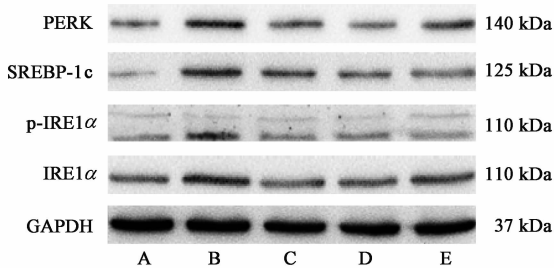


图 2 各组大鼠肝脏组织中 SREBP-1c, PERK, IRE1α 和 p-IRE1α 蛋白的表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of SREBP-1c, PERK, IRE1α and p-IRE1α protein expression in each group of rats

4 讨论

肥胖作为损害肝脏健康的重要因素, 愈来愈引起人们的关注。非酒精性脂肪性肝 (NAFLD) 是一种肝细胞内脂肪过度沉积为主要特征的代谢综合征, 以其高患病率、低龄化趋势和慢性进展性经过等因素, 成为包括我国在内的全球第一大慢性肝病。随着人口老龄化进程的加剧, 肝脏的疾病谱也在发生着很大的变化。越来越多的研究证实, NAFLD 的临床负担不仅限于肝脏, 而且是肝外并发症(心血

管疾病、恶性肿瘤等)的独立风险因素^[8]。现今我国肥胖儿童比率在逐年升高, 青少年脂肪肝风险不容忽视^[9]。因此加强减重保肝药物的研发显得十分迫切。

目前对肥胖导致 NAFLD 的认识正不断加深。肥胖者由于体内脂肪组织的增加, 体内游离脂肪酸和炎症因子也会释放增多, 从而转移至肝脏, 影响肝脏糖脂代谢, 使得肝脏中 TG 合成增加, 最终形成脂肪肝。大量文献已报道内质网应激可以调节肝脏脂类代谢, 未折叠蛋白反应的 3 条经典信号通路组分在脂类代谢调节中发挥作用。其中, ①肌醇依赖酶 1α-X 盒结合蛋白 1 (IRE1α-XBP1) 路径是内质网应激条件下维持肝脏脂质稳态所必需的, 也是生物进化中最保守的一条非折叠蛋白反应的信号通路。内质网应激可以通过 IRE-1α 通路激活应激活化蛋白激酶 (JNK) 并抑制胰岛素受体底物 (IRS-1), 导致胰岛素抵抗, 最终促进肝细胞脂肪变性^[10]。②PERK-磷酸化 α 亚基的真核起始因子 2α (eIF2α) 路径和活化转录因子 6 (ATF6) 路径调节脂肪生成和肝脂肪

变性^[11]。当 PERK 通路被激活后诱导磷酸化 eIF2 α 的磷酸化,磷酸化的 eIF2 α 将诱导重组人 CCAAT 增强子结合蛋白(c/EBP)的蛋白表达,进而增加调节脂肪代谢的核受体过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (PPAR γ)的表达^[12]。③另外肝细胞内质网应激的持续存在可启动固醇调节级联反应,激活 SREBP-1c,增强脂肪酸合成酶(FAS)等成脂相关基因的转录,进一步促进甘油三酯的合成和异常堆积^[13],使脂肪性肝病和脂肪堆积进一步进展。研究表明,在 TG 的合成过程中,SREBP-1c 过表达使 FAS 上调从而增加 TG 的合成^[14]。

研究表明,中医药的作用特点是多环节、多靶点、多途径的,在对疾病的防治方面具有独特的优势^[15]。黄芪散组方的 3 味药材黄芪、葛根、桑白皮在防治糖尿病、肥胖、脂肪肝等代谢综合征的研究已多有报道^[16-18]。本实验研究结果表明,高脂喂养诱导的肥胖大鼠模型体质量、肝脏系数明显升高,肝组织病理显著病变且弥漫肝细胞大泡样脂肪变、肝细胞大量脂肪油滴,附睾脂肪病理显著病变且脂肪细胞明显变大。黄芪散给药后以上病理变化得到明显改善,且黄芪散可显著降低肥胖大鼠的糖脂水平,肝组织中的内质网应激相关因子 PERK, SREBP-1c, IRE-1 α /p-IRE-1 α 的蛋白水平显著降低。以上结果表明黄芪散具有调节糖脂代谢、保护肝脏和减轻体质量的作用,其机制与内质网应激有关。立普妥作为一种常用的他汀类降脂药,虽然疗效显著,但是可能引发肝损伤等副作用。在此次实验中发现立普妥在改善大鼠体质量方面效果不足,仍需进一步探索。此外,由于中药复方的作用多靶点,机制复杂,尚需不断扩展黄芪散对代谢性疾病的药理机制研究,为临床应用提供更多的实验依据。

[参考文献]

[1] Mary J W E. Nutrition, the visceral immune system, and the evolutionary origins of pathogenic obesity[J]. PNAS, 2019, 116(3): 723-731.

[2] Hepatology T L G. Obesity management; gastroenterologists take centre stage [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2017, 2(7): 463.

[3] Elizabeth T C, Lining G, Christine L S, et al. Profound perturbation of the metabolome in obesity is associated with health risk[J]. Cell Metab, 2019, 29(2): 488-500.

[4] Ayonrinde O T, Oddy W H, Adams L A, et al. Infant nutrition and maternal obesity influence the risk of non-alcoholic fatty liver disease in adolescents [J]. J Hepatol, 2017, 67(3): 568-576.

[5] 郝梦娇,党院霞,周欣欣,等. 黄芪散对高脂血症大鼠 AMPK/ACC/CPT1 通路的影响[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(12): 2586-2592.

[6] 李艳,高英,高颖,等. 黄芪散及其拆方对 T2DM 大鼠胰岛素抵抗及肝组织 11 β -HSD1, PEPCK 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(15): 136-142.

[7] 罗娇艳,王芳,张娟,等. 黄芪散对糖脂代谢和骨生物学指标影响的实验研究[J]. 广东药学院学报, 2015, 31(1): 75-79.

[8] Mikolasevic I, Milic S, Racki S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)-a new cardiovascular risk factor in peritoneal dialysis patients[J]. Perit Dial Int, 2016, 36(4): 427-432.

[9] Valentini D, Alisi A, di Camillo C, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in italian children with down syndrome: prevalence and correlation with obesity-related features[J]. J Pediatr, 2017, 189: 92-97.

[10] DONG L, XING L, TI Z, et al. IRE1-RACK1 axis orchestrates ER stress preconditioning-elicited cytoprotection from ischemia/reperfusion injury in liver [J]. J Mol Cell Biol, 2016, 8(2): 144-156.

[11] LI H, ZHOU B, LIU J, et al. Administration of progranulin (PGRN) triggers ER stress and impairs insulin sensitivity via PERK-eIF2 α -dependent manner [J]. Cell Cycle, 2015, 14(12): 1893-1907.

[12] Woo-Gyun C, Jaeseol H, Ji-Hyeon K, et al. eIF2 α phosphorylation is required to prevent hepatocyte death and liver fibrosis in mice challenged with a high fructose diet [J]. Nutr Metab (Lond), 2017, doi: 10.1186/s12986-017-0202-6.

[13] ZHAI X, YAN K, FAN J, et al. The β -catenin pathway contributes to the effects of leptin on SREBP-1c expression in rat hepatic stellate cells and liver fibrosis [J]. Br J Pharmacol, 2013, 169(1): 197-212.

[14] XU X, Jae-Seon S, Jong-Gil P, et al. Transcriptional control of hepatic lipid metabolism by SREBP and ChREBP[J]. Semin Liver Dis, 2013, 33(4): 301-311.

[15] 李雨庭,李诗畅,牛雯颖,等. 方剂药理研究的方法与思路[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(21): 229-234.

[16] 石格,毛志敏,万毅刚,等. 糖尿病肾病足细胞损伤的病理机制及中药的干预作用[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(13): 2416-2421.

[17] 刘倩,范颖,李新,等. 黄芪葛根配伍调节糖尿病大鼠血糖血脂炎症的作用与机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(11): 81-86.

[18] 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.

[责任编辑 周冰冰]