

## 论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.10.006

基于 HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  研究荷叶颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠脂代谢及 SREBP-1c 表达的影响\*

叶小丹,林 军,陈 剑,苏林红,柳侠平,朱小区

(浙江中医药大学附属温州中医院肝病科/感染科,浙江温州 325000)

**【摘要】** 目的 基于缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )/过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ )研究荷叶颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠脂代谢及胆固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c)表达的影响。方法 将SD大鼠分为对照组、模型组、荷叶颗粒低剂量组(0.5 g/kg)、荷叶颗粒中剂量组(1.0 g/kg)、荷叶颗粒高剂量组(1.5 g/kg)、多烯磷脂酰胆碱组(14.25 mg/kg),每组12只,对照组以普通饲料喂养,其余各组以高脂饲料喂养8周建立非酒精性脂肪肝大鼠模型,分组处理后,检测肝指数,丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)水平,三酰甘油(TG)及游离脂肪酸(FFA)水平;以HE检测各组大鼠肝组织病理变化;以酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒检测各组大鼠血清肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )及白细胞介素6(IL-6)水平,以Western blot检测肝组织中HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SREBP-1c蛋白表达。结果 与对照组相比,模型组大鼠肝组织呈现脂肪变性,并有大量脂肪空泡,肝索排列紊乱,肝细胞坏死等病理损伤,肝指数、ALT、AST、TG、FFA、TNF- $\alpha$ 及IL-6水平,HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 及SREBP-1c蛋白表达明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组相比,荷叶颗粒低、中、高剂量组、多烯磷脂酰胆碱组大鼠肝组织病理损伤减轻,肝指数、ALT、AST、TG、FFA、TNF- $\alpha$ 及IL-6水平,HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 及SREBP-1c蛋白表达降低( $P < 0.05$ ),荷叶颗粒各剂量组呈剂量依赖性,荷叶颗粒高剂量组与多烯磷脂酰胆碱组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 荷叶颗粒剂可下调SREBP-1c表达,降低非酒精性脂肪肝大鼠血脂水平,减轻肝组织炎症及脂肪变性,改善其肝功能,可能是通过抑制HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$ 信号通路实现的。

**【关键词】** 缺氧诱导因子1;过氧化物酶体增殖物激活受体;非酒精性脂肪性肝病;胆固醇调节元件结合蛋白1;荷叶颗粒剂;脂代谢

[中图分类号] R575

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)10-1575-05

Effects of Heye granule on lipid metabolism and SREBP-1c expression in nonalcoholic fatty liver rats based on HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$ \*

YE Xiaodan, LIN Jun, CHEN Jian, SU Linhong, LIU Xiaoping, ZHU Xiaoqu

(Department of Hepatology/Infectious Diseases, Wenzhou Hospital of Chinese Medicine Affiliated to Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Wenzhou, Zhejiang 325000, China)

**【Abstract】** **Objective** To study the effects of Heye granule on lipid metabolism and SREBP-1c expression in rats with nonalcoholic fatty liver based on HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$ . **Methods** SD rats were randomly divided into the control group, the model group, the Heye granule low dose group (0.5 g/kg), the medium dose group (1 g/kg), the high dose group (1.5 g/kg) and the Essentiale group (14.25 mg/kg), with 12 rats in each group. The control group was fed with ordinary feed, and the other groups were fed with high-fat diet for 8 weeks to establish nonalcoholic fatty liver model. After treatment, the liver index, alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels, triacylglycerol (TG) and free fatty acids (FFA) were measured. Hematoxylin eosin staining (HE) was used to detect the pathological changes of liver tissue. The levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 were detected by ELISA, and the expressions of HIF-1 $\alpha$ , PPAR $\gamma$  and SREBP-1c in liver tissue were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the liver tissue of the model group showed fatty degeneration, with a large number of fat vacuoles, disorder of liver cord arrangement, necrosis of liver cells and other pathological damages, and liver indexes, ALT, AST, TG, FFA, TNF- $\alpha$  and IL-6 levels, HIF-1 $\alpha$ , PPAR $\gamma$  and SREBP-1c protein expressions increased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the pathological damage of the liver tissue in the Heye granule low, middle and

\* 基金项目:浙江省温州市医药卫生科研项目(2018A05)。作者信息:叶小丹(1987-),主治医师,硕士,主要从事对脂肪肝、病毒性肝炎、肝硬化、肝癌等肝脏疾病的研究。

high dose groups and the Essentiale group was reduced, liver indexes, ALT, AST, TG, FFA, TNF- $\alpha$  and IL-6 levels, HIF-1 $\alpha$ , PPAR $\gamma$  and SREBP-1c protein expressions decreased ( $P < 0.05$ ). The Heye granule groups were dose-dependent, and there was no significant difference between the Heye granule high dose group and the Essentiale group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Heye granule can down-regulate the expression of SREBP-1c, decrease the level of blood lipid, reduce the inflammation and steatosis of liver tissue, and improve the liver function of nonalcoholic fatty liver rats, which may be achieved by suppressing HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  signaling pathway.

**[Key words]** hypoxia-inducible factor 1; peroxisome proliferator-activated receptors; non-alcoholic fatty liver disease; sterol regulatory element binding protein 1; Heye granule; lipid metabolism

非酒精性脂肪肝早期无太大危害,但任其发展,可引发肝组织大面积脂肪变性,肝细胞坏死,进展为肝炎、肝纤维化、肝硬化等,且还易并发心脑血管疾病,严重损害人们生命健康<sup>[1-2]</sup>。胆固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c)是调控脂质代谢的关键因子,其过度表达,可增强脂肪合成,造成肝脏脂质聚积,引发氧化应激及炎症反应,是非酒精性脂肪肝的主要致病机制<sup>[3-4]</sup>。缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )是细胞适应缺氧环境的重要调节因子,低氧诱导其高表达;过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ )可上调成脂性基因表达,进而促进脂肪合成。HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  信号可调控免疫炎症反应,调控脂肪肝的发生发展,下调其表达,可阻止氧化应激及炎症反应,抑制脂肪合成,改善非酒精性脂肪肝临床症状<sup>[5-7]</sup>。荷叶具有降脂、抗氧化等作用,可与其他中药组成降脂方剂,降低血脂水平,减弱肝组织脂肪变性,缓解非酒精性脂肪肝症状<sup>[8-9]</sup>。但荷叶单独使用对非酒精性脂肪肝大鼠脂代谢、SREBP-1c 表达及 HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  通路的影响,目前还不清楚。本文通过建立非酒精性脂肪肝大鼠模型,对此进行研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

SD 大鼠,SPF 级,雄性,广东省医学实验动物中心提供,生产许可证号 SCXK(粤)2016-0002,动物质量合格证号省科委 2000A027。在浙江中医药大学动物房中饲养,自由饮食、饮水,12 h/12 h 间断照明,温度 25  $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 50%,保持动物房安静、清洁、透气。

#### 1.1.2 主要试剂及仪器

荷叶颗粒(江阴天江药业有限公司,每包 0.5),批号 1210068;多烯磷脂酰胆碱胶囊(赛诺非北京医药公司),批号 H20059010。HE 染色试剂盒(上海生物工程有限公司),货号 E607218-0200;TNF- $\alpha$ 、IL-6 ELISA 试剂盒、兔抗 GAPDH、HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$  及 SREBP-1c 一抗、羊抗兔二抗(美国 Abcam 公司),货号 ab208348、ab100712、ab181602、ab179483、ab209350、ab193318、ab150077;蛋白提取试剂盒、BCA 试剂盒(上海碧云天公司),货号 P0027、P0011 等。全自动生化分析仪(上海帝博思生物科技有限公

司),型号 PUZS-300;手动轮转式切片机(德国 Leica 公司),型号 RM2125RTS;光学显微镜(日本 Nikon 公司),型号 SMZ745;酶标仪(美国 Perkin Elmer 公司),型号 XELx800;蛋白电泳仪、半干转膜仪(美国 Bio-Rad 公司),型号 1659001,Trans-Blot SD;低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司),型号 Centrifuge 5424R;凝胶成像仪(Miulab 公司),型号 GIS-500 等。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物模型制备及分组给药

参考文献[10]的方法建立模型,SD 大鼠以高脂饲料(猪油 20%、胆酸钠 0.5%、胆固醇 0.4%、丙硫氧嘧啶 0.2%、基础饲料 79.5%)喂养 8 周,大鼠血脂水平升高,肝功能下降,经组织病理学检测肝组织出现脂肪变性,表明模型建立成功。共建模 64 只,成功 60 只,分为模型组、荷叶颗粒低剂量组、荷叶颗粒中剂量组、荷叶颗粒高剂量组、多烯磷脂酰胆碱组,另取 12 只以普通饲料喂养大鼠设为对照组。

荷叶颗粒以生理盐水溶解配制为 0.05、0.10、0.15 g/mL 的溶液<sup>[11]</sup>,多烯磷脂酰胆碱以生理盐水溶解配制为 14.25 g/mL 的溶液<sup>[12]</sup>,荷叶颗粒低剂量组、荷叶颗粒中剂量组、荷叶颗粒高剂量组、多烯磷脂酰胆碱组大鼠以 10.00 mL/kg 的剂量灌胃,对照组与模型组以等剂量生理盐水灌胃,每日给药 1 次,共给药 14 d。

#### 1.2.2 大鼠肝指数测定及标本采集

末次给药结束 24 h 后,各组大鼠经尾静脉取血 4.00 mL,静置、离心,取上清液,获得血清储存在 -80  $^{\circ}\text{C}$  备用。然后将大鼠称质量后麻醉处死,解剖取出大鼠肝脏,称质量后测定肝指数,公式为:肝指数 = 肝脏湿重/体质量  $\times 100\%$ ,剪取约 0.50 g 肝组织置于液氮中备用,剩余组织以生理盐水漂洗、4%多聚甲醛溶液固定、低浓度到高浓度梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后,使用切片机做常规病理切片备用。

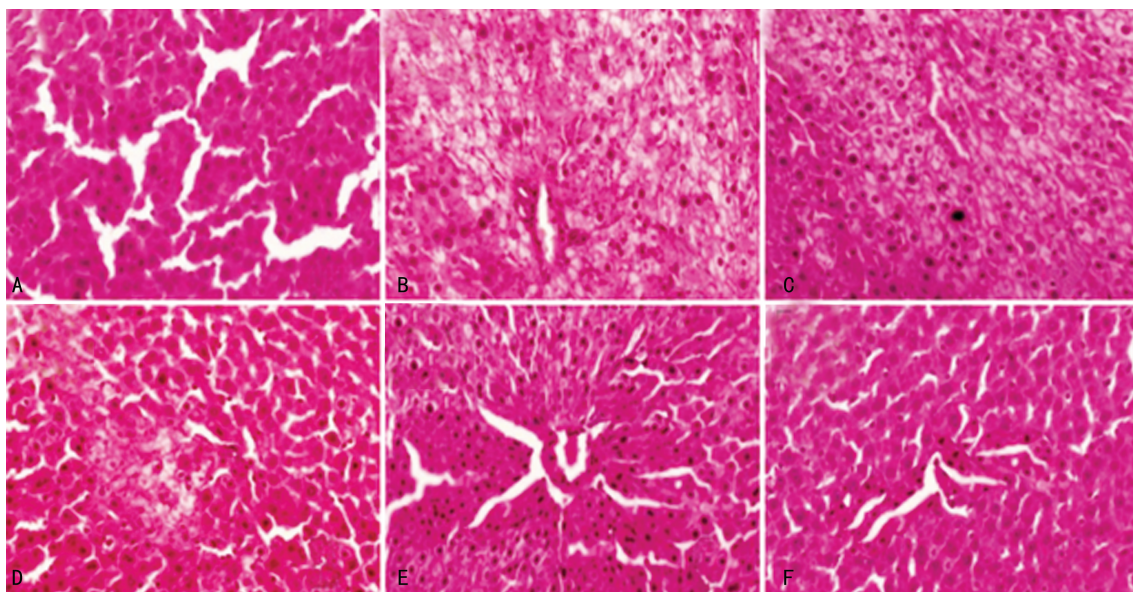
#### 1.2.3 大鼠肝功能、血脂及血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平检测

将 1.2.2 中血清置于 4  $^{\circ}\text{C}$  解冻,采用全自动生化分析仪测定大鼠丙氨酸氨基转移酶(ALT)及天门冬氨酸氨基转移酶(AST)水平、三酰甘油(TG)及游离脂肪酸(FFA)水平、血清肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )及白细胞介素 6(IL-6)水平,具体操作参照仪器和试剂

表 1 各组大鼠肝指数、肝功能指标及血脂水平比较( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	肝指数(%)	ALT(U/L)	AST(U/L)	TG(mmol/L)	FFA(mmol/L)
对照组	2.35±0.18	30.37±6.35	68.39±8.96	0.64±0.06	0.43±0.09
模型组	3.48±0.20 <sup>a</sup>	64.81±9.23 <sup>a</sup>	95.78±13.12 <sup>a</sup>	1.28±0.12 <sup>a</sup>	1.58±0.14 <sup>a</sup>
荷叶颗粒低剂量组	3.10±0.13 <sup>b</sup>	53.89±8.47 <sup>b</sup>	86.43±12.06 <sup>b</sup>	1.05±0.10 <sup>b</sup>	1.19±0.10 <sup>b</sup>
荷叶颗粒中剂量组	2.78±0.11 <sup>bc</sup>	42.37±7.63 <sup>bc</sup>	77.36±11.93 <sup>bc</sup>	0.85±0.08 <sup>bc</sup>	0.83±0.08 <sup>bc</sup>
荷叶颗粒高剂量组	2.41±0.09 <sup>bcd</sup>	31.97±7.02 <sup>bcd</sup>	69.11±9.24 <sup>bcd</sup>	0.66±0.05 <sup>bcd</sup>	0.47±0.05 <sup>bcd</sup>
多烯磷脂酰胆碱组	2.40±0.08 <sup>bcd</sup>	31.42±7.06 <sup>bcd</sup>	69.02±9.08 <sup>bcd</sup>	0.65±0.07 <sup>bcd</sup>	0.46±0.06 <sup>bcd</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组相比; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与模型组相比; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与荷叶颗粒低剂量组相比; <sup>d</sup>:  $P < 0.05$ , 与荷叶颗粒中剂量组相比。



A: 对照组; B: 模型组; C: 荷叶颗粒低剂量组; D: 荷叶颗粒中剂量组; E: 荷叶颗粒高剂量组; F: 多烯磷脂酰胆碱组。

图 1 各组大鼠肝组织病理形态(HE×200)

盒的说明书进行。

1.2.4 大鼠肝组织病理损伤检测

选取 1.2.2 中完整的切片,经脱蜡后,以高浓度到低浓度梯度乙醇依次处理,然后参照 HE 试剂盒的说明书进行 HE 染色,再次脱水、透明后封片,在显微镜下观察肝组织病理形态,任选 5 个视野拍照。

1.2.5 Western blot 检测大鼠肝组织 HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SREBP-1c 蛋白表达

选取 1.2.2 中冻存的肝组织,剪碎后加入蛋白裂解液,匀浆制备为匀浆液,以参照 BCA 试剂盒的说明书测定其中总蛋白浓度,并根据测定结果将各组蛋白浓度调整至相同,煮沸变性后,取 20  $\mu$ L 样品液上样,进行电泳,蛋白分离后将其全部转移至硝酸纤维膜上,经 5% 的脱脂奶粉封闭后,根据目的蛋白分子量截取条带,于 4  $^{\circ}$ C 冰箱中,分别以 1 : 1 000 的兔抗 HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SREBP-1c 一抗溶液孵育过夜,以 TBST 漂洗 3 次,于室温下,以 1 : 2 000 的羊抗兔二抗溶液孵育 2 h,以 TBST 漂洗 3 次,以增强化学发光法显色,采用凝胶成像仪观察条带并拍照,最后使用 Image-J 软件分析图像,获得各组蛋白相对表达。

1.3 统计学处理

实验数据以 SPSS22.0 软件进行统计分析,计量

资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较进行单因素方差分析,进一步两组间比较采用 LSD- $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 荷叶颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠肝指数、肝功能的影响

与对照组相比,模型组大鼠肝指数、肝功能指标 ALT 及 AST 明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组相比,荷叶颗粒低、中、高剂量组,多烯磷脂酰胆碱组大鼠肝指数、ALT 及 AST 水平降低( $P < 0.05$ ),荷叶颗粒各剂量组呈剂量依赖性,荷叶颗粒高剂量组与多烯磷脂酰胆碱组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

2.2 荷叶颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠血脂的影响

与对照组相比,模型组大鼠血清 TG、FFA 水平明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组相比,荷叶颗粒低、中、高剂量组,多烯磷脂酰胆碱组大鼠血清 TG、FFA 水平降低( $P < 0.05$ ),荷叶颗粒各剂量组呈剂量依赖性,荷叶颗粒高剂量组与多烯磷脂酰胆碱组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

2.3 荷叶颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织病理形态的影响

对照组肝组织正常,模型组大鼠肝组织呈现脂肪

变性,并有大量脂肪空泡,肝索排列紊乱,肝细胞坏死等病理损伤;荷叶颗粒低、中、高剂量组,多烯磷脂酰胆碱组大鼠上述病理损伤减轻,并随荷叶颗粒剂量升高而损伤减轻,荷叶颗粒高剂量组与多烯磷脂酰胆碱组相比,病理损伤减轻程度无明显差异,见图 1。

表 2 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	TNF- $\alpha$ (ng/mL)	IL-6(ng/mL)
对照组	1.28 $\pm$ 0.23	1.02 $\pm$ 0.21
模型组	12.87 $\pm$ 2.29 <sup>a</sup>	10.31 $\pm$ 2.16 <sup>a</sup>
荷叶颗粒低剂量组	9.05 $\pm$ 1.31 <sup>b</sup>	7.19 $\pm$ 1.01 <sup>b</sup>
荷叶颗粒中剂量组	5.21 $\pm$ 0.89 <sup>bc</sup>	4.03 $\pm$ 0.68 <sup>bc</sup>
荷叶颗粒高剂量组	1.37 $\pm$ 0.25 <sup>bcd</sup>	1.14 $\pm$ 0.25 <sup>bcd</sup>
多烯磷脂酰胆碱组	1.35 $\pm$ 0.27 <sup>bcd</sup>	1.12 $\pm$ 0.26 <sup>bcd</sup>

<sup>a</sup>: $P < 0.05$ ,与对照组相比;<sup>b</sup>: $P < 0.05$ ,与模型组相比;<sup>c</sup>: $P < 0.05$ ,与荷叶颗粒剂低剂量组相比;<sup>d</sup>: $P < 0.05$ ,与荷叶颗粒剂中剂量组相比。

## 2.4 荷叶颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的影响

与对照组相比,模型组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组相比,荷叶颗粒低、中、高剂量组,多烯磷脂酰胆碱组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、

IL-6 水平降低( $P < 0.05$ ),荷叶颗粒各剂量组呈剂量依赖性,荷叶颗粒高剂量组与多烯磷脂酰胆碱组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

## 2.5 荷叶颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织 HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SREBP-1c 蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组大鼠肝组织 HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SREBP-1c 蛋白表达水平明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组相比,荷叶颗粒低、中、高剂量组,多烯磷脂酰胆碱组大鼠肝组织 HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SREBP-1c 蛋白表达水平降低( $P < 0.05$ ),荷叶颗粒各剂量组呈剂量依赖性,荷叶颗粒高剂量组与多烯磷脂酰胆碱组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 2、表 3。

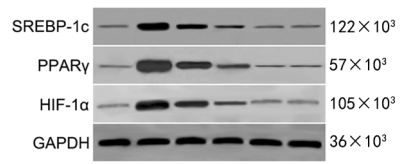


图 2 Western blot 检测各组大鼠肝组织 HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SREBP-1c 蛋白表达

A:对照组;B:模型组;C:荷叶颗粒低剂量组;D:荷叶颗粒中剂量组;E:荷叶颗粒高剂量组;F:多烯磷脂酰胆碱组。

表 3 各组大鼠肝组织 HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SREBP-1c 蛋白相对表达( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	HIF-1 $\alpha$ /GAPDH	PPAR $\gamma$ /GAPDH	SREBP-1c/GAPDH
对照组	0.08 $\pm$ 0.02	0.10 $\pm$ 0.03	0.09 $\pm$ 0.01
模型组	1.18 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	1.43 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	1.08 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
荷叶颗粒低剂量组	0.89 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	1.01 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	0.65 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>
荷叶颗粒中剂量组	0.51 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup>	0.49 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup>	0.29 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>
荷叶颗粒高剂量组	0.11 $\pm$ 0.03 <sup>bcd</sup>	0.14 $\pm$ 0.04 <sup>bcd</sup>	0.10 $\pm$ 0.02 <sup>bcd</sup>
多烯磷脂酰胆碱组	0.10 $\pm$ 0.03 <sup>bcd</sup>	0.13 $\pm$ 0.03 <sup>bcd</sup>	0.11 $\pm$ 0.03 <sup>bcd</sup>

<sup>a</sup>: $P < 0.05$ ,与对照组相比;<sup>b</sup>: $P < 0.05$ ,与模型组相比;<sup>c</sup>: $P < 0.05$ ,与荷叶颗粒低剂量组相比;<sup>d</sup>: $P < 0.05$ ,与荷叶颗粒中剂量组相比。

## 3 讨论

近年来我国非酒精性脂肪肝的发病率呈上升趋势,高糖高脂饮食是该病的主要致病因素,患者均存在脂代谢异常情况,血脂水平异常升高<sup>[13-14]</sup>;导致脂肪沉积在肝脏,肝组织产生大量活性氧及自由基,炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达增强,引发炎症损伤<sup>[15]</sup>;肝组织坏死,血液中 ALT、AST 水平升高<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,建模大鼠肝组织呈现脂肪变性,并伴有大量脂肪空泡,肝索排列紊乱,肝细胞坏死等病理损伤,肝指数、ALT、AST、TG、FFA 水平明显升高,表明高脂喂养可导致大鼠脂代谢异常,肝组织脂肪变性,肝细胞坏死,提示模型建立成功。

《本草纲目》记载:“荷叶服之,令人瘦劣”,可清热健脾、升发清阳、裨助脾胃。荷叶是各组降脂方剂的主要成分,可降低血脂水平,对脂肪肝具有很好的疗效<sup>[17-18]</sup>,但其药理机制目前还未有明确阐述。SREBP-1c 可调控肝脏脂质代谢,提高肝脏脂类合成,并抑制其转运,而下调 SREBP-1c 表达,可使肝脏脂

代谢平衡恢复正常,减轻氧化应激及炎症损伤<sup>[19]</sup>。HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  是机体调控氧化应激及炎症的主要信号通路,下调其表达,可改善脂代谢异常,减轻非酒精性脂肪肝临床症状<sup>[6-7,20]</sup>。SREBP-1c 及 HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  信号通路可能是改善非酒精性脂肪肝大鼠脂代谢,缓解大鼠临床症状的作用靶点,但荷叶颗粒对其的影响目前还未研究清楚。本研究结果显示,以荷叶颗粒处理非酒精性脂肪肝大鼠,大鼠肝组织脂肪变性及炎症损伤减轻,肝指数、ALT、AST、TG、FFA、TNF- $\alpha$  及 IL-6 水平降低,且呈剂量依赖性,表明荷叶颗粒可降低血脂水平,促使脂代谢恢复正常,降低炎症损伤,改善肝功能,并随剂量升高而作用增强。另外非酒精性脂肪肝大鼠经荷叶颗粒处理后,肝组织 HIF-1 $\alpha$ 、PPAR $\gamma$  及 SREBP-1c 蛋白表达降低,表明荷叶颗粒治疗非酒精性脂肪肝大鼠时,可下调 SREBP-1c 及 HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  通路蛋白表达。

综上所述,荷叶颗粒可能通过抑制 SREBP-1c 及 HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  信号,减轻炎症反应,改善非酒精性

脂肪肝大鼠脂代谢,保护肝功能,缓解大鼠临床症状。但本研究未使用 HIF-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  通路的抑制剂及激动剂进行对照验证,有待后续进一步研究。

## 参考文献

- [1] ALIZADEH A, MANSOUR-GHANAIE F, ROOZDAR A, et al. Laboratory tests, liver vessels color doppler sonography, and FibroScan findings in patients with nonalcoholic fatty liver disease; an observation study[J]. *J Clin Imaging Sci*, 2018, 8(1):12-21.
- [2] PELUSI S, BASELLI G, PIETRELLI A, et al. Role of rare pathogenic mutations in the development of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*, 2018, 68: S330-331.
- [3] 余敏, 李钢, 唐成林, 等. 电针“丰隆”穴对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织固醇调节元件结合蛋白-1c 的影响[J]. *针刺研究*, 2017, 42(4):308-314.
- [4] AWAD A S, ABD AL HALEEM E N, EL-BAKLY W M. Thymoquinone alleviates nonalcoholic fatty liver disease in rats via suppression of oxidative stress, inflammation, apoptosis [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2016, 389(4):381-391.
- [5] 赵东梅, 赵艳红, 张涛. 反流性食管炎 PPAR $\gamma$ , HIF-1 $\alpha$  表达意义及半夏厚朴汤干预研究[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2015, 23(11):783-786.
- [6] MA Z, ZHANG Y, LI Q, et al. Resveratrol improves alcoholic fatty liver disease by downregulating HIF-1 $\alpha$  expression and mitochondrial ROS production[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0183426.
- [7] MARUYAMA H, KIYONO S, KONDO T, et al. Palmitate-induced regulation of PPAR $\gamma$  via PGC1 $\alpha$ : a mechanism for lipid accumulation in the liver in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Int J Med Sci*, 2016, 13(3):169-178.
- [8] 楼招欢, 程斌, 夏伯侯, 等. 荷叶对高糖高脂饮食诱导的实验性非酒精性脂肪肝的作用研究[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(5):2169-2173.
- [9] 杨丹虹, 楼招欢, 程斌, 等. 荷叶对高脂高糖致 NAFLD 大鼠炎症因子水平及 AdipoR2 表达的作用研究[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(18):3406-3411.
- [10] 栾梅, 栾博, 邱雅慧, 等. 祛脂调肝中药对非酒精性脂肪肝大鼠 SOCS-3, SREBP-1c 和 PPAR- $\gamma$  的影响[J]. *西北国防医学杂志*, 2019, 40(4):35-39.
- [11] 吴荣叶. 口服荷叶灰治疗中老年肥胖症继发高脂血症患者的疗效[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(8):1795-1797.
- [12] 时昭红, 郑丁, 郭洁, 等. 葱白提取物对非酒精性脂肪肝模型大鼠 ACCase 和 CPT-1 表达的影响[J]. *山东中医杂志*, 2019, 38(4):362-367.
- [13] WANG Q Q, MA W Y, XIA J Z. Nonalcoholic fatty liver is associated with further left ventricular abnormalities in patients with type 2 diabetes mellitus: a 3-Dimensional Speckle-Tracking study[J]. *J Ultra Med*, 2018, 37(8):1899-1911.
- [14] BAE U J, PARK E O, PARK J, et al. Gypenoside ULA-Rich gynostemma pentaphyllum extract exerts a hepatoprotective effect on diet-induced nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Am J Chin Med*, 2018, 46(6):1315-1332.
- [15] MUKAI T, EGAWA M, TAKEUCHI T, et al. Silencing of FABP1 ameliorates hepatic steatosis, inflammation and oxidative stress in mice with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *FEBS Open Bio*, 2017, 7(7):1009-1016.
- [16] LI L, YIN H, ZHAO Y, et al. Protective role of puerarin on LPS/D-Gal induced acute liver injury via restoring autophagy[J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(3):957-965.
- [17] 舒广文, 邱韵涵, 李薇, 等. 荷叶总生物碱激活肝脏 AMPK/Nrf2 通路缓解对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤[J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(2):198-203, 317.
- [18] 刘晏, 朱凌云, 王跃荣, 等. 荷泽降脂口服液治疗肝郁脾虚型非酒精性脂肪肝的临床研究[J]. *中成药*, 2014, 36(8):1607-1612.
- [19] 姚笑睿, 夏凡, 唐外姣, 等. 护肝清脂片对非酒精性脂肪肝大鼠肝脏中 AMPK 通路激活及 NF- $\kappa$ B-p65 蛋白的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2017, 37(1):56-62.
- [20] XU C L, QIAO X J, ZHAO Y F, et al. Resveratrol ameliorates chronic high altitude exposure-induced oxidative stress and suppresses lipid metabolism alteration in rats[J]. *Eur J Lip Sci Technol*, 2016, 118(4):612-621.