

基于米糠脂肪烷醇的中药复方对高脂血症大鼠肝脏胆固醇代谢的影响

陈 简, 颜明丽, 谭晓玉, 张笑萌, 李云英, 刘 录*

(云南中医药大学云南省高校保健食品化妆品工程研究中心, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 从调控肝脏胆固醇代谢角度探讨基于米糠脂肪烷醇的中药复方辅助降血脂的作用机制。**方法** 将 36 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、阳性组(辛伐他汀)、受试物组(中药复方高、中、低剂量组)。除正常组灌胃等体积双蒸水外,其余各组脂肪乳灌胃复制 SD 大鼠高脂血症模型。给予相应受试物 4 w 后,分别检测血清和肝脏中的脂质水平;苏木素-伊红(HE)染色观察肝组织病理改变,油红 O 染色观察脂质沉积情况;实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测肝脏胆固醇 7 α -羟化酶(CYP7A1)、低密度脂蛋白受体(LDLR)、前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin9 型(PCSK9)mRNA 表达水平。**结果** 与模型组相比,受试物能明显降低高脂血症大鼠血清和肝脏中 TC、TG、LDL-C 水平($P<0.01$, $P<0.001$);HE 和油红 O 染色可见,受试物能减少肝脏中的脂肪蓄积,减轻肝细胞脂肪变性程度;与模型组相比,受试物能明显升高肝脏 CYP7A1 mRNA 的表达($P<0.001$)、降低 PCSK9 mRNA 的表达($P<0.01$)。**结论** 米糠脂肪烷醇复配山楂、三七的中药复方具有降低高脂血症大鼠血脂的作用,其机制可能与调控肝脏胆固醇摄取和利用有关。

关键词: 高脂血症;米糠脂肪烷醇;胆固醇代谢;CYP7A1;PCSK9

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2024)04-0066-09

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2024.04.014

Effect of Traditional Chinese Medicine Compound Based on Rice Bran Fatty Alcohols on Cholesterol Metabolism in the Liver of Hyperlipidemic Rats

CHEN Jian, YAN Mingli, TAN Xiaoyu, ZHANG Xiaomeng, LI Yunying, LIU Lu

(Yunnan University of Chinese Medicine, Yunnan Health Food and Cosmetics Engineering Research Center, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective This study aims to investigate the mechanism by which a traditional Chinese medicine compound, based on rice bran fatty alcohols, aids in reducing blood lipids by regulating hepatic cholesterol metabolism. **Methods** Thirty-six SD rats were randomly allocated into four groups: a normal control group, a hyperlipidemia model group, a positive control group treated with simvastatin, and three test substance groups receiving high, medium, or low doses of the traditional Chinese medicine compound. The normal control group was administered an equal volume of double-distilled water via gavage, while the remaining groups were given a fat emulsion to induce hyperlipidemia in SD rats. After four weeks of treatment with the designated substances, serum and liver lipid levels were assessed. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to examine changes in liver tissue morphology, and oil red O staining was used to visualize lipid deposition. Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was utilized to quantify the mRNA expression levels of cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1), low-density lipoprotein receptor (LDLR), and proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) in the liver. **Results** The test substance significantly decreased the levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in the serum and liver of hyperlipidemic rats compared to the model group ($P<0.01$, $P<0.001$). HE and oil red O staining revealed that the test substance reduced fat accumulation in the liver and attenuated the degree of hepatocyte steatosis. Additionally, the test substance significantly upregulated the

基金项目: 云南省高校工程研究中心(2020YGG01);云南省中医药科技资源开放共享公共科技服务平台

作者简介: 陈 简(2001-),女,在读硕士研究生,E-mail: 1668378860@qq.com

* 通信作者: 刘 录(1986-),男,博士,副教授,研究方向:中药质量研究标准,E-mail: todayliulu@163.com

expression of CYP7A1 mRNA in the liver ($P<0.001$) and downregulated the expression of PCSK9 mRNA ($P<0.01$) compared to the model group. **Conclusion** The traditional Chinese medicine compound, consisting of rice bran fatty alkanols, hawthorn, and Panax notoginseng, effectively lowers blood lipids in hyperlipidemic rats, and its mechanism may involve the regulation of hepatic cholesterol uptake and utilization.

KEY WORDS: hyperlipidemia; rice bran fatty alkanols; cholesterol metabolism; CYP7A1; PCSK9

高脂血症又称血脂异常,是一种复杂的代谢紊乱,受到脂质合成、运输与清除之间动态平衡的影响^[1]。这种病症主要表现为总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)与相关脂蛋白代谢功能紊乱^[2]。在我国城乡居民疾病死亡构成比中,心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)居断层第一^[3],动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是该疾病发生和发展的主要原因,而血清TC升高与AS的发展有密切关联^[4],因此调控肝脏胆固醇代谢相关基因表达对于降低血脂水平,改善脂质代谢,从而对抗高脂血症的发展至关重要。目前,调控胆固醇代谢平衡药物已在临床中用于预防和治疗AS、癌症等疾病。如他汀类药物可竞争性抑制羟甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, HMGCR)活性进而阻碍胆固醇合成,逆转胰腺癌中的转录因子以促进胰腺癌细胞的衰老^[5]等作用,但服用他汀类药物存在肝损伤、横纹肌溶解等不良反应^[6]。

肝脏是胆固醇代谢的主要场所,增强胆固醇逆转运(reverse cholesterol transport, RCT)和促进胆固醇转化为胆汁酸是治疗高脂血症的两条重要途径^[9-11]。其中,胆固醇7 α -羟化酶(cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1)是胆固醇代谢的关键酶^[12-14]。低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)将低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)运送到细胞内进行分解,以维持血液中的胆固醇水平^[15-16]。在细胞外途径中,PCSK9的催化域与LDLR的表皮生长因子-A(epidermal growth factor-A, EGF-A)结构域结合并形成稳定的复合物,阻止LDLR回收到细胞表面,间接导致LDL-C水平升高^[17]。经过近几年的不断深入研究,PCSK9-LDLR通路在降血脂机制方面备受关注^[18]。

作为国家卫生健康委员会批准的新资源食品原料,米糠脂肪烷醇具有影响胆固醇合成限速酶

HMGCR的活性^[19]、影响PCSK9水平^[20]等作用。三七(Panax notoginseng)作为云南道地药材,其降血脂机制可能与升高CYP7A1,降低PCSK9的表达,促进肝脏对LDL-C的摄取,使血脂维持在正常的水平等作用有关^[21-22]。山楂(Crataegus pinnatifida)是一种药食同源的中药材,具有消食健胃、化浊降脂^[23]等功效。

前期研究表明米糠脂肪烷醇复配三七(经60%乙醇回流提取)、山楂(经50%乙醇回流提取)的中药复方具有辅助降血脂作用,但具体机制还不清楚。本文采用脂肪乳灌胃复制高脂血症大鼠模型研究该中药复方辅助降血脂的作用机制,为开发出具有辅助降血脂功能的保健产品提供新思路。

1 材料

1.1 实验动物 SPF级雄性SD大鼠36只,体质量200~220 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2019-0010,合格证号:No. 110324241101430387。按照云南中医药大学动物实验伦理审查委员会的相关规定进行实验,伦理委员会审批号:R-062023210。

1.2 试剂 辛伐他汀片(山东鲁抗医药集团塞特有限责任公司,批号:230501);三七、山楂(由云南中医药大学第一附属医院中药房提供);米糠脂肪烷醇(湖州圣涛生物技术有限公司);胆固醇(上海麦克林生化科技股份有限公司,批号:C80457);丙硫氧嘧啶片(上海朝晖药业有限公司,批号:2312N10);猪胆酸钠(北京奥博星生物技术有限责任公司,批号:20240220);高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20240508);Eastep® Super总RNA提取试剂盒(北京普洛麦格生物技术公司,批号:0000565921);Eastep® RT Master Mix Kit(上海普洛麦格生物技术公司,批号:0000555236);Eastep® qPCR Master Mix(2X)(上海普洛麦格生物技术公司,批号:0000583641);大鼠

ACTB 内参引物(上海生工生物工程公司,批号:JC20KA2386);饱和油红 O 染液(Solarbio,批号:G1260);异丙醇(生产商:天津市致远化学试剂有限公司;批号:20220501311);苏木素染色液(武汉 Servicebio 生物技术有限公司,批号:CR2301055);伊红染色液(武汉 Servicebio 生物技术有限公司,批号:CR2308055)。

1.3 仪器 高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司,型号 SCIENTZ-48);组织包埋机(美国 Thermo Fisher 公司,型号 HISTOSTAR);轮转式切片机(美国 Thermo Fisher 公司,型号 HM 340E);玻片扫描影像系统(深圳市生强科技有限公司,型号 SQS-20Pro);电子分析天平(德国 Sartorius 公司,型号 BCE224I-1CCN);台式高速离心机(湖南赫西仪器装备公司,型号 H/T16MM);酶标仪(美国 Molecular-Device 公司,型号 SpectraMax I3X);超微量分光光度计(美国 Thermo Fisher 公司,型号 NanoDrop Lite);PCR 扩增仪(美国 Thermo Fisher 公司,型号 Veriti);荧光定量 PCR 扩增仪(美国 Thermo Fisher 公司,型号 QuantStudio 5)。

2 方法

2.1 给药剂量 基于米糠脂肪烷醇的中药复方由三七(60%乙醇回流提取),山楂(50%乙醇回流提取),米糠脂肪烷醇组成。前期研究表明,该复方在 0.723 67 g/kg(含三七 0.467 g/kg、山楂 0.250 g/kg、米糠脂肪烷醇 6.670 mg/kg)有较显著的降血脂作用。因此,本研究在前期研究的基础上,设置中药复方高剂量组为 2.171 01 g/kg(含三七 1.401 g/kg、山楂 0.750 g/kg、米糠脂肪烷醇 20.01 mg/kg),中剂量组为 0.723 67 g/kg(含三七 0.467 g/kg、山楂 0.250 g/kg、米糠脂肪烷醇 6.670 mg/kg),低剂量组为 0.362 335 g/kg(含三七 0.234 g/kg、山楂 0.125 g/kg、米糠脂肪烷醇 3.335 mg/kg),灌胃体积为 1 mL/100 g。

2.2 动物分组与样品采集 36 只雄性 SD 大鼠适应性喂养 7 d 后,随机分为正常组、模型组、阳性组(7.2 mg/kg 辛伐他汀)、中药复方(高、中、低剂量)组。除正常组灌胃等体积双蒸水外,其余各组每天按 2 mL/100 g 体重灌胃脂肪乳(40 g 猪油、20 g 胆固醇、1 g 丙硫氧嘧啶片、20 mL 吐温-80、20 mL 丙二醇、20 mL 10%猪胆酸钠溶液)复制高脂血症大鼠模型^[24]。于造

模第 8 天开始,每日上午灌胃脂肪乳造模,间隔 10 h 后,阳性组、中药复方高、中、低剂量组按 1 mL/100 g 灌胃给予干预药物溶液,正常组和模型组灌胃等体积双蒸水。每日监测各组大鼠空腹体重,持续 4 w。

2.3 体重 实验开始时称量并记录大鼠空腹体重,之后每周的最后一天称量记录大鼠空腹体重,观察各组大鼠的空腹体重变化。

2.4 脏器指数 取出的大鼠肝脏、脾脏、肾脏在冰生理盐水中洗去其上多余的血液,用滤纸拭干,进行称重。计算脏器指数:脏器指数(%)=脏器湿重(g)/动物体重(g)×100%。

2.5 血脂检测 将收集的血液以 3 500 rpm/min 离心 10 min 后分离血清,参照试剂盒说明书,检测血清中 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的水平。

2.6 肝脂检测 称量约 50 mg 肝右叶组织置于研磨管,加入 0.9%氯化钠溶液,研磨仪内充分研磨,研磨后以 3 500 r/min 离心 10 min,取上清液测定 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的水平。

2.7 肝脏形态学观察 取出的大鼠肝脏拍照,观察各组大鼠肝脏的形态学变化。

2.8 苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠肝组织病理学改变情况 将肝组织从固定液中取出置于包埋框内,流水冲洗 12 h,进行脱水、浸蜡、包埋、切片(厚度约为 5 μm),后按照 HE 染色步骤进行染色,封片晾干保存。

2.9 油红 O 染色观察大鼠肝组织脂质沉积情况 肝组织冷冻切片干燥 30 min 后,用组织固定液固定 15 min,充分洗涤,使用 60%异丙醇浸洗;油红 O 染色 8~10 min(加盖避光),洗片后浸入苏木素复染 3~5 min;染色好的组织切片用甘油明胶进行封片,在玻片扫描系统下扫描拍照后观察。

2.10 检测各组大鼠肝脏组织中胆固醇代谢相关基因 mRNA 表达 参照说明书提取大鼠肝组织总 RNA,收集 RNA 后检测其浓度,利用 Eastep® RT Master Mix Kit 试剂盒逆转录获得 cDNA,后按照表 1 步骤进行实时荧光 PCR 扩增,引物由上海生工合成,详见表 2。

qPCR 原始数据先通过 QuantStudio™ Design & Analysis Software v1.5.2 软件处理后,按照① $\Delta CT = CT_{目的基因} - CT_{内参}$,② $\Delta\Delta CT = \Delta CT_{实验组} - \Delta CT_{正常组}$,

③ $F=2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算实验组相对正常组 mRNA 表达变化。

表 1 qPCR 标准扩增程序

程序	温度/°C	时间	循环数
预变性	95	2 min	1
热循环	95	15 s	40
	60	60 s	
溶解曲线	-	Dissociation stage	

表 2 目的基因引物序列

Oligo Name	Sequence(5'-3')	Length
LDLR	F:GGACAAGTCGGACGAGGAGAAC	22
	R:CGGTCACACTGGCGGCTAC	19
PCSK9	F:TGGAGCAACGGCGGAAGG	18
	R:CGAGGACGGAGACTACGAAGAG	22
CYP7A1	F:AGGTCTCTGAACTGATCCGTCTAC	24
	R:GAATAGCGAGGTGCGTCTTGG	21

表 3 中药复方对高脂血症大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, g, n=6$)

组别	造模第 1 周	造模第 2 周 (给药第 1 周)	造模第 3 周 (给药第 2 周)	造模第 4 周 (给药第 3 周)	造模第 5 周 (给药第 4 周)
正常组	260.1±12.6	281.5±12.9	299.5±9.0	309.6±12.3	315.3±12.0
模型组	261.2±10.5	275.8±11.0	285.7±8.5	297.6±17.2	319.7±14.9
阳性对照组	258.3±16.8	271.5±7.2	283.2±17.9	294.2±13.7	311.0±14.3
高剂量组	262.8±18.3	283.3±21.6	289.4±17.9	301.3±15.9	312.5±15.9
中剂量组	259.3±3.4	271.8±14.5	282.0±13.8	300.6±19.2	315.8±17.4
低剂量组	261.7±8.3	277.3±16.4	282.7±16.4	298.5±13.3	318.6±18.0

表 4 中药复方对高脂血症模型大鼠肝脏指数的影响

($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	肝脏指数/%
正常组	2.98±0.16
模型组	4.24±0.35 ^{###}
阳性对照组	4.24±0.32
高剂量组	4.15±0.25
中剂量组	4.15±0.27
低剂量组	4.10±0.25

注:与正常组比较, ^{###} $P<0.01$

2.11 统计学分析 所有数据采用 IBM SPSS Statistics 26 进行统计分析。数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据不符合正态分布采用非参数检验;符合正态分布进行方差齐性检验,方差齐时采用单因素方差分析(One-way ANOVA)中的 Dunnett 分析,当方差不齐时采用秩合检验(Kruskal-Wallis test)。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 中药复方对高脂血症大鼠体重的影响 实验期间大鼠生长状况良好,随时间推移,各组大鼠体重均增加,但差异均无统计学意义,详见表 3。

3.2 中药复方对高脂血症大鼠脏器指数的影响 与正常组相比,模型组大鼠的脾脏指数明显降低,肝脏指数明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05, P<0.01$),肾脏指数有降低趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组相比,中药复方高、中、低剂量组大鼠的肝脏指数、肾脏指数、脾脏指数均无明显变化。详见表 4 至表 6。

表 5 中药复方对高脂血症模型大鼠脾脏指数的影响

($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	脾脏指数/%
正常组	0.19±0.02
模型组	0.16±0.02 [#]
阳性对照组	0.16±0.03
高剂量组	0.16±0.05
中剂量组	0.15±0.03
低剂量组	0.16±0.03

注:与正常组比较, [#] $P<0.05$

表6 中药复方对高脂血症模型大鼠肾脏指数的影响
($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	肾脏指数(%)
正常组	0.70±0.06
模型组	0.60±0.06
阳性对照组	0.68±0.10
高剂量组	0.65±0.04
中剂量组	0.64±0.06
低剂量组	0.64±0.06

3.3 中药复方对高脂血症大鼠血脂的影响 与正常组相比,模型组的TC、TG、LDL-C均明显升高,差异具有统计学意义($P<0.001$),HDL-C有降低趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$)。与模型组相比,中药复方的高剂量组大鼠血清中TC、LDL-C含量明显降低,差异具有统计学意义($P<0.01, P<0.001$);中药复

方的中剂量组和低剂量组大鼠血清中TC、TG、LDL-C含量明显降低,差异具有统计学意义($P<0.01, P<0.001$)。详见表7。

3.4 中药复方对高脂血症大鼠肝脂的影响 与正常组相比,模型组的TC、TG、LDL-C均明显升高,HDL-C明显降低,差异具有统计学意义($P<0.01, P<0.001$);与模型组相比,中药复方的高剂量组大鼠肝脏中的TC、TG、LDL-C含量均明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05, P<0.01, P<0.001$),HDL-C含量有升高趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);中药复方的中剂量组大鼠肝脏中的TC、TG、LDL-C含量有降低趋势,HDL-C含量有升高趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);中药复方的低剂量组大鼠肝脏中的TC、LDL-C含量明显降低,差异具有统计学意义($P<0.01$),TC、LDL-C含量有降低趋势,HDL-C含量有升高趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表8。

表7 中药复方对高脂血症模型大鼠血脂四项的影响($\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}, n=6$)

组别	TC	TG	LDL-C	HDL-C
正常组	1.38±0.42	0.12±0.05	0.80±0.40	0.78±0.13
模型组	12.27±1.65 ^{###}	0.82±0.17 ^{###}	6.72±0.98 ^{###}	0.68±0.11
阳性对照组	3.57±1.96 ^{***}	0.32±0.08 ^{***}	2.43±1.11 ^{***}	0.67±0.36
高剂量组	5.09±2.75 ^{**}	0.61±0.29	2.80±1.45 ^{***}	0.59±0.21
中剂量组	4.74±2.54 ^{***}	0.48±0.28 ^{**}	3.62±0.94 ^{**}	0.62±0.34
低剂量组	5.26±1.17 ^{**}	0.53±0.22 ^{**}	3.78±1.29 ^{**}	0.65±0.28

注:与正常组比较,^{###} $P<0.001$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$,^{***} $P<0.001$

表8 中药复方对高脂血症模型大鼠肝脂的影响($\bar{x} \pm s, \text{mmol/gprot}, n=6$)

组别	TC	TG	LDL-C	HDL-C
正常组	2.85±0.46	8.66±0.95	1.63±0.45	3.41±0.48
模型组	13.06±1.36 ^{###}	19.65±1.50 ^{###}	5.95±1.06 ^{##}	0.95±0.37 ^{###}
阳性对照组	9.43±4.05 [*]	13.69±2.16 ^{***}	3.66±0.52 [*]	1.13±0.45
高剂量组	10.17±0.99 ^{***}	15.48±1.59 ^{**}	3.82±0.42 [*]	1.32±0.39
中剂量组	10.98±1.06	17.90±2.14	4.38±0.51	1.09±0.21
低剂量组	12.17±3.09	15.94±2.44 ^{**}	5.63±0.52	1.10±0.59

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$,^{###} $P<0.001$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$,^{***} $P<0.001$

3.5 中药复方对高脂血症大鼠肝脏形态学的影响

正常组肝脏无异常变化,呈红褐色,表面光滑有光泽;模型组与正常组比较,模型组肝脏肿大,表面油

膩,颜色发黄甚至发白;受试物组与模型组比较,肝脏膨大程度减轻,呈浅黄色,表面较细腻,边缘稍钝,质地偏软。详见图1。

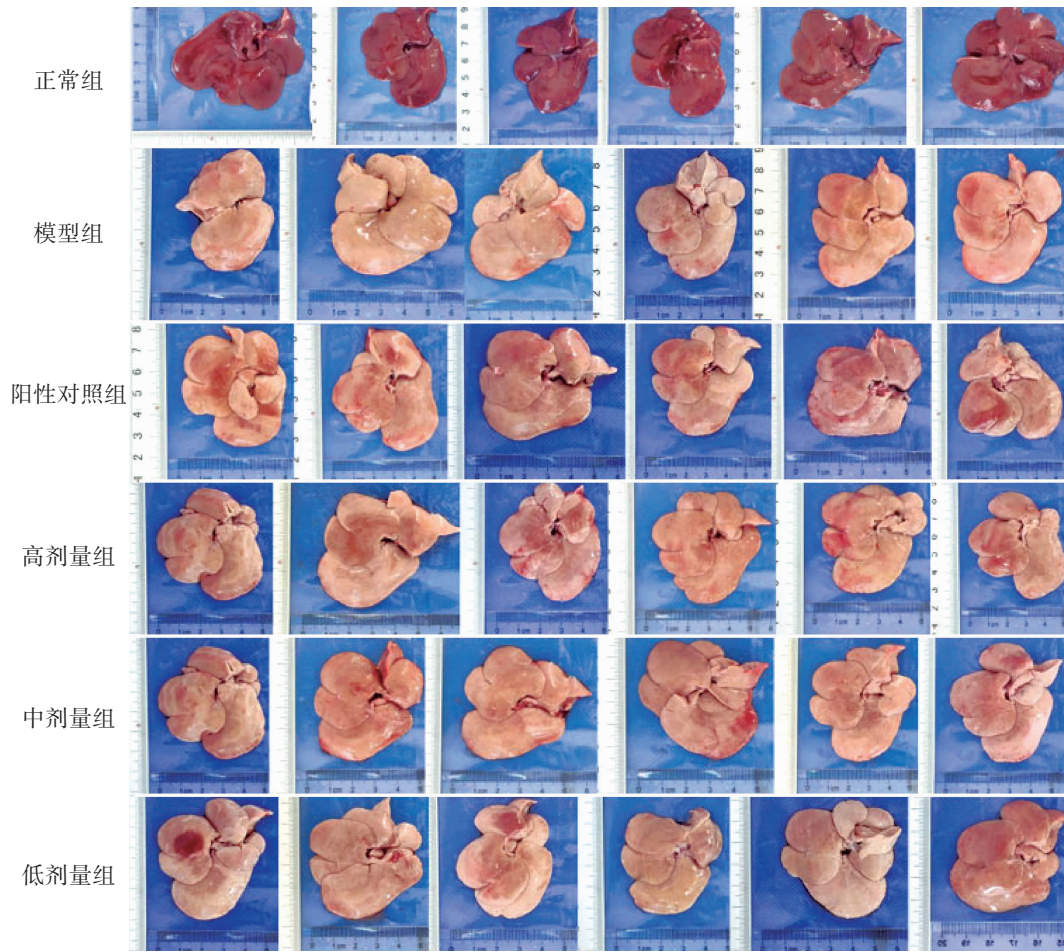


图 1 中药复方对高脂血症大鼠肝脏形态学的影响

3.6 中药复方对高脂血症大鼠肝组织病理学的影响 HE 染色可见正常组大鼠肝小叶、肝窦结构清晰,肝细胞大小、结构、形态正常;与正常组比较,模型组大鼠肝窦变窄,肝小叶排列不正常,肝细胞肿

胀且排列紊乱,细胞质内有脂肪空泡;与模型组比较,受试物组大鼠肝小叶清晰程度、肝组织脂肪空泡、肝细胞大小、结构、形态均有不同程度的改善。详见图 2。

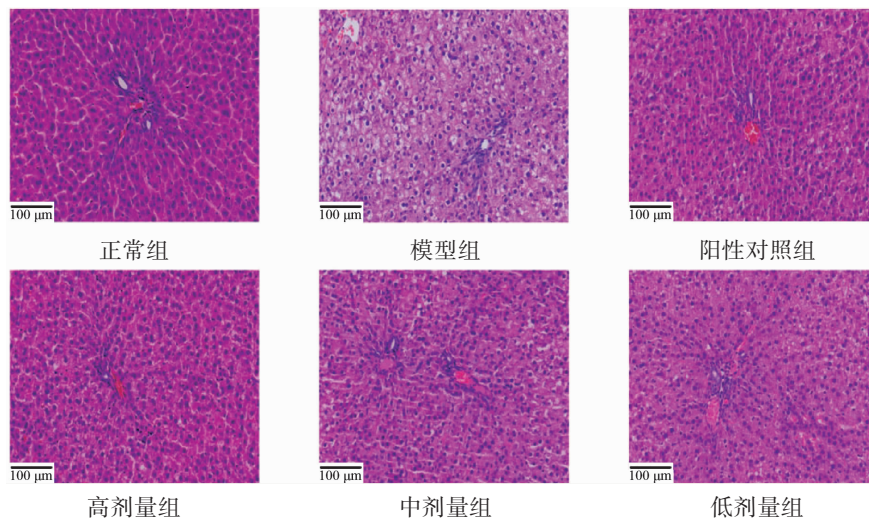


图 2 中药复方对高脂血症大鼠肝组织病理学的影响(HE 染色,×200)

3.7 中药复方对高脂血症大鼠肝组织脂质沉积的影响
油红 O 染色可见正常组肝细胞核染为蓝色,未出现红色脂滴;模型组肝细胞质内红色脂滴明显,弥

漫分布,脂质蓄积严重;与模型组相比,中药复方高、中、低剂量组肝细胞脂滴均明显减少,脂质蓄积程度均减轻。详见图 3。

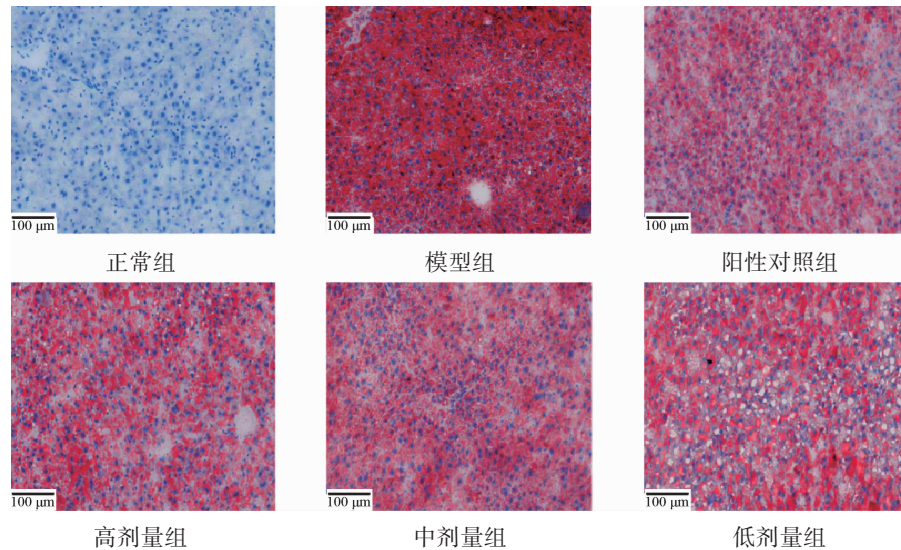


图 3 中药复方对高脂血症大鼠肝组织病理学的影响(油红 O 染色,×200)

3.8 中药复方对高脂血症模型大鼠肝脏 CYP7A1 mRNA 的影响 与正常组相比,模型组的 CYP7A1 mRNA 表达显著下调,差异具有统计学意义 ($P<0.05$);与模型组相比,中药复方高、中、低剂量组的 CYP7A1 mRNA 表达显著上调,差异具有统计学意义 ($P<0.05, P<0.01, P<0.001$)。详见表 9。

表 9 中药复方对高脂血症模型大鼠肝脏 CYP7A1 mRNA 的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	CYP7A1
正常组	1.79±0.51
模型组	0.69±0.65 [#]
阳性对照组	1.96±0.51 ^{**}
高剂量组	1.64±0.40 [*]
中剂量组	1.97±1.20 ^{**}
低剂量组	2.99±1.66 ^{***}

注:与正常组相比,[#] $P<0.05$;与模型组比,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.05$,^{***} $P<0.001$

3.9 中药复方对高脂血症模型大鼠肝脏 PCSK9-LDLR 信号通路 mRNA 的影响 与正常组相比,模型组的 LDLR mRNA 表达显著下调,PCSK9 mRNA 表达显著上调,差异具有统计学意义 ($P<0.05, P<0.001$);与模型组相比,中药复方的高、中、低剂量组

LDLR mRNA 表达有上调趋势,但差异无统计学意义 ($P>0.05$);中药复方的中剂量组 PCSK9 mRNA 表达显著下调,差异有统计学意义 ($P<0.01$);中药复方的高剂量组 PCSK9 mRNA 表达有下调趋势,但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。详见表 10。

表 10 中药复方对高脂血症模型大鼠肝组织 PCSK9-LDLR mRNA 的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	LDLR	PCSK9
正常组	1.35±0.78	1.00±0.42
模型组	0.16±0.07 ^{###}	2.62±1.43 [#]
阳性对照组	0.31±0.14	1.90±1.50
高剂量组	0.71±1.09	2.00±0.77
中剂量组	0.3±0.10	0.74±0.16 ^{**}
低剂量组	0.31±0.11	3.49±1.35

注:与正常组相比,[#] $P<0.05$,^{###} $P<0.001$;与模型组比,^{**} $P<0.01$

4 讨论

高脂血症是指由于机体脂质代谢紊乱或转运异常,导致血浆中一种或多种脂质结构失衡的代谢性疾病^[25],与动脉粥样硬化性心血管疾病(atherosclerotic cardiovascular disease, ASCVD)密切相关^[26],具体表现为血液中 TC、TG、LDL-C 水平升高和 HDL-C 水平

降低^[27]。血浆总胆固醇水平升高是高脂血症发生的关键原因,而天然产物中的有效成分能够通过增加肝脏对胆固醇的吸收、减少肝脏内胆固醇的生成以及阻止肠道对胆固醇的吸收,从而调节血浆中的总胆固醇含量^[28]。本文用脂肪乳灌胃构建大鼠高脂血症模型,经鉴定后表明模型构建成功。研究表明,复配三七、山楂、米糠脂肪烷醇的中药复方具有调节血脂的作用,与之前的研究结果一致。同时,米糠脂肪烷醇复配山楂、三七能够减少肝脏内脂质沉积,改善肝组织形态,说明该复方可有效改善高脂血症的症状。

大量临床研究表明 LDL-C 水平升高导致的血脂异常是 ASCVD 主要的危险因素之一^[29]。LDLR 是位于细胞膜上的蛋白质受体,在肝脏细胞上表达居多,LDL-C 主要经 LDLR 内吞循环代谢经胆道从肠道排出体外^[30]。PCSK9 作为 1 种分泌性蛋白,主要功能是与肝细胞表面的 LDLR 结合,将其运送到溶酶体进行降解,造成肝脏对 LDL-C 摄取能力下降,导致血浆中 LDL-C 的水平升高^[7]。CYP7A1 是肝脏特异性微粒体细胞色素 P450 家族 7 亚家族 A 成员,在催化胆固醇转化为 7 α -羟胆固醇促进胆汁酸分解反应中作为限速酶存在^[31]。

综上所述,LDLR 是清除血液中 LDL 的关键受体,PCSK9 通过减少 LDLR 的数量来调节胆固醇水平,而 CYP7A1 则参与了胆固醇向胆汁酸的转化,这三者共同参与了胆固醇的代谢和调节。本文以调节肝脏胆固醇摄取和利用的关键因子 PCSK9、LDLR、CYP7A1 为切入点,通过脂肪乳灌胃建立高脂血症大鼠模型,评价复配中药复方是否通过增加肝脏胆固醇摄取和利用进而调节胆固醇代谢。结果显示,复配三七、山楂、米糠脂肪烷醇的中药复方具有辅助降血脂、缓解肝脏脂质沉积等作用,并能上调高脂血症大鼠肝脏 CYP7A1、LDLR mRNA 表达,抑制 PCSK9 mRNA 表达,其机制可能与调控肝脏胆固醇摄取和促进胆固醇利用有关。但本研究仅为初步探讨,基于米糠脂肪烷醇的中药复方如何影响肝脏对胆固醇吸收,是否可促进胆固醇排出等具体机理尚需深入研究和实验确认,这将成为后续研究的方向和内容。

参考文献:

[1] CHENG F,ZHANG K,YANG X,et al. Multi-omics analy-

sis reveals the mechanism of lacticaseibacillus paracasei IMAUJBC1 in alleviating hyperlipidemia [J]. Journal of Functional Foods,2024,114:106079.

[2] BAMBA V,RADER D J. Obesity and atherogenic dyslipidemia[J]. Gastroenterology,2007,132(6):2181-2190.

[3] 马文君,马涵萍,王运红,等.《2021 年中国心血管病医疗质量报告》概要[J]. 中国循环杂志,2021,36(11):1041-1064.

[4] AGUILAR B M, HERRERO C A, VINUÉ Á, et al. Impact of cholesterol metabolism in immune cell function and atherosclerosis[J]. Nutrients,2020,12(7):2021.

[5] 瑞丽,李倩倩,刘约瑟,等. 胆固醇代谢重编程在胰腺癌中的作用及靶向胆固醇代谢药物的应用[J]. 生理学报,2023,75(3):413-428.

[6] SHAGRONI T,PARK C,ROUAH E,et al. Statin-associated autoimmune myopathy[J]. Rheumatology,2017,56(6):1043-1044.

[7] SEIDAH N G,AWAN Z,CHRÉTIEN M,et al. PCSK9: a key modulator of cardiovascular health[J]. Circulation Research,2014,114(6):1022-1036.

[8] 李琴,刘惠美,李兰芳. 常见中药在治疗血脂异常中的研究新进展[J]. 中国动脉硬化杂志,2023,31(7):564-572.

[9] CHIANG J Y L. Bile acid metabolism and signaling[J]. Comprehensive Physiology,2013,3(3):1191.

[10] LIU J,LI Y,SUN C,et al. Geniposide reduces cholesterol accumulation and increases its excretion by regulating the FXR-mediated liver-gut crosstalk of bile acids [J]. Pharmacological Research,2020,152:104631.

[11] RIZZOLO D,BUCKLEY K,KONG B,et al. Bile acid homeostasis in a cholesterol 7 α -hydroxylase and sterol 27-hydroxylase double knockout mouse model[J]. Hepatology(Baltimore, Md),2019,70(1):389-402.

[12] PULLINGER C R, ENG C, SALEN G, et al. Human cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype[J]. The Journal Of Clinical Investigation,2002,110(1):109-117.

[13] CHAMBERS K F,DAY P E,ABOUFARRAG H T,et al. Polyphenol effects on cholesterol metabolism via bile acid biosynthesis, CYP7A1: a review[J]. Nutrients,2019,11(11):2588.

[14] MADISON B B. Srebp2: a master regulator of sterol and fatty acid synthesis1[J]. Journal of Lipid Research,2016,57(3):333-335.

- [15] KRYSA J A, OOI T C, PROCTOR S D, et al. Nutritional and lipid modulation of PCSK9: effects on cardiometabolic risk factors[J]. *The Journal of Nutrition*, 2017, 147(4): 473-481.
- [16] 李苗, 俞沁玮, 江振洲, 等. LDLR的调控机制及其相关疾病与药物研究进展[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2022, 27(8): 946-954.
- [17] SEIDAH N G, PRAT A. The multifaceted biology of PCSK9[J]. *Endocrine Reviews*, 2022, 43(3): 558-582.
- [18] LEE R G, MAZZOLA A M, BRAUN M C, et al. Efficacy and safety of an investigational single-course CRISPR base-editing therapy targeting PCSK9 in nonhuman primate and mouse models[J]. *Circulation*, 2023, 147(3): 242-253.
- [19] 涂越, 刘建平, 胡林芳, 等. 米糠脂肪烷醇的组成、功能及物理化学修饰研究进展[J]. *现代食品科技*, 2023, 39(12): 62-69.
- [20] MILICA Z C, MIODRAG O, IVANA B, et al. Supplementation with octacosanol affects the level of PCSK9 and restore its physiologic relation with LDL-C in patients on chronic statin therapy[J]. *Nutrients*, 2021, 13: 903.
- [21] 赵文萃, 张宁, 周慧琴, 等. 三七总黄酮对高血脂大鼠血脂的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(8): 143-147.
- [22] 翁路安, 苏洁, 王婷, 等. 基于PCSK9-LDLR信号通路探讨三七破壁粉对高血脂症大鼠的降脂作用[J]. *中成药*, 2023, 45(2): 564-569.
- [23] 孙飞, 吴相亲, 何琼, 等. 山楂化浊降脂功效成分筛选及质量控制方法研究[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(1): 100-109.
- [24] 孙航, 宁珑, 方钰发, 等. 脂肪乳诱导SD大鼠与KM小鼠高脂血症模型的对比研究[J]. *实验动物科学*, 2022, 39(2): 50-54.
- [25] 张清源, 张敬文, 吴千言, 等. 活血化瘀类复方防治高脂血症的临床研究热点与趋势——基于VOSviewer的可视化分析[J]. *中草药*, 2022, 53(1): 196-205.
- [26] MAFFIA P, MAURO C, CASE A, et al. Canonical and non-canonical roles of complement in atherosclerosis[J]. *Nature Reviews Cardiology*, 2024: 1-19.
- [27] PACKARD C J, BOREN J, TASKINEN M R. Causes and consequences of hypertriglyceridemia[J]. *Frontiers In Endocrinology*, 2020, 11: 532994.
- [28] 周昶, 黄蓉, 蔡园, 等. 天然产物中生物碱类成分调血脂作用机制研究进展[J]. *中草药*, 2024, 55(5): 1717-1727.
- [29] FERGUSON J J A, STOJANOVSKI E, MACDONALD-WICKS L, et al. Curcumin potentiates cholesterol-lowering effects of phytosterols in hypercholesterolaemic individuals. a randomised controlled trial [J]. *Metabolism Clinical and Experimental*, 2018, 82: 22-35.
- [30] 王楚瑶, 蒋素素, 向德彪, 等. 姜黄素通过调节PCSK9促进肝细胞摄取血浆LDL-C[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(10): 1415-1421.
- [31] QAYYUM F, LAURIDSEN B K, FRIKKE S R, et al. Genetic variants in CYP7A1 and risk of myocardial infarction and symptomatic gallstone disease [J]. *European Heart Journal*, 2018, 39(22): 2106-2116.

(收稿日期: 2024-06-19)

(上接第53页)

- [7] 刘敬, 李文建, 王春明, 等. 当归中有效成分阿魏酸的生物合成及调控[J]. *中草药*, 2008, 39(12): 1909-1912.
- [8] 李小阳, 翟小林, 王丹, 等. 基于一测多评法的当归药材质量控制在研究[J]. *中草药*, 2022, 53(20): 6354-6360.
- [9] 胡碧薇, 初杰. 藁本内酯实验研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2014, 16(1): 215-217.
- [10] 唐文文, 李国琴, 晋小军. 不同干燥方法对当归挥发油成分的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(3): 9-12.
- [11] 纪鹏, 华永丽, 薛文新, 等. 当归及其不同炮制品的挥发油提取及成分分析[J]. *天然产物研究与开发*, 2012, 24(9): 1230-1234, 1238.
- [12] 李越峰, 吴平安, 刘峰林, 等. 当归趁鲜切片对当归中阿魏酸含量的影响[J]. *中国中医药信息杂志*. 2014, 1(9): 90-93.
- [13] 张静, 杨平荣, 王燕萍, 等. 当归产地加工与饮片炮制一体化工艺研究[J]. *兰州大学学报(医学版)*, 2019, 45(3): 13-20.
- [14] 杨林, 罗晓星, 王四旺, 等. 正交设计提取当归川芎中阿魏酸的研究[J]. *云南中医学院学报*, 2007, 30(2): 14-16

(收稿日期: 2024-04-10)