

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003261

当归芍药散通过调节 Sirt1/NF- κ B 信号通路改善高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪肝炎症反应

王 静, 张止雨, 余明霞, 叶 可, 于晴晴, 叶卫佳, 冷秀茹, 王维维
(宿州学院生物与食品工程学院药物药理研究中心, 宿州 234000)

【摘要】目的:研究当归芍药散治疗高脂饮食(high-fat diet, HFD)诱导的大鼠非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)炎症反应的作用机制。**方法:**将大鼠随机分为5组:正常组、HFD组、阿伐他丁组、当归芍药散低剂量组、当归芍药散高剂量组。大鼠给予高脂肪饲料(59.3%脂肪饲料)6周,正常组大鼠同时给予正常饲料。从第5周开始,阿伐他丁组大鼠灌胃给予25 mg/kg阿伐他丁2周,当归芍药散低剂量组大鼠灌胃给予12.9 g/kg当归芍药散2周,当归芍药散高剂量组大鼠灌胃给予25.8 g/kg当归芍药散2周,检测大鼠血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、甘油三酯(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC)、血清细胞因子水平。同时检测大鼠肝脏沉默信息调节因子1(sirtuin 1, Sirt1)/核转录因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路蛋白表达。**结果:**与模型组比较,当归芍药散能显著降低血清ALT、AST、TG、TC、血清细胞因子水平,改善肝脏组织病理学改变。此外,显著增加大鼠肝脏Sirt1表达,抑制肝脏NF- κ B蛋白表达。**结论:**当归芍药散通过Sirt1/NF- κ B通路治疗HFD大鼠NAFLD。

【关键词】当归芍药散;非酒精性脂肪肝;高脂;沉默信息调节因子1/核转录因子- κ B

【中图分类号】R285.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2023-01-26

Danggui Shaoyao Powder improves inflammatory response in rats with non-alcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet by regulating the Sirt1/NF- κ B signaling pathway

Wang Jing, Zhang Zhiyu, Yu Mingxia, Ye Ke, Yu Qingqing, Ye Weijia, Leng Xiuru, Wang Weiwei
(Pharmaceutical Pharmacology Research Center, School of Biology and Food Engineering, Suzhou University)

【Abstract】Objective: To investigate the mechanism of action of Danggui Shaoyao Powder in the treatment of inflammatory response in rats with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) induced by high-fat diet (HFD). **Methods:** Rats were randomly divided into normal group, HFD group, avastatin group, Danggui Shaoyao Powder low-dose group, and Danggui Shaoyao Powder high-dose group. The rats were given HFD (containing 59.3% fat) for 6 weeks, while the rats in the normal group were given normal diet. Since week 5, rats in the avastatin group were given 25 mg/kg of Avastatin by gavage for 2 weeks, while rats in the low-dose Danggui Shaoyao powder group were given 12.9 g/kg of Danggui Shaoyao powder by gavage for 2 weeks, and rats in the high-dose Danggui Shaoyao powder group were given 25.8 g/kg of Danggui Shaoyao powder by gavage for 2 weeks, and the serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), triglyceride (TG), cholesterol (TC), and cytokines were measured. Meanwhile, the expression levels of the sirtuin 1 (Sirt1)/nuclear factor kappa-B (NF- κ B) signaling pathway proteins in rat liver were also measured. **Results:** Compared with the model group, Danggui Shaoyao Powder significantly reduced the serum levels of ALT, AST, TG, TC, and cytokines and improved the pathological changes of the liver. In addition, it significantly increased the expression of Sirt1 and inhibited the expression of NF- κ B in rat liver. **Conclusion:** Danggui Shaoyao Powder exerts a therapeutic effect on rats with NAFLD induced by HFD through the Sirt1/NF- κ B pathway.

【Key words】 Danggui Shaoyao Powder; nonalcoholic fatty liver disease; high fat; sirtuin 1/nuclear factor kappa-B

作者介绍: 王 静, Email: 919706556@qq.com,

研究方向: 抗炎及抗肿瘤活性研究。

通信作者: 王维维, Email: 249432388@qq.com。

基金项目: 安徽省自然科学基金青年资助项目(编号: 2208085QH261);

安徽省高等学校科学研究资助项目(编号: 2022AH051362)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1046.R.20230710.0955.027.html>

(2023-07-10)

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是世界范围内发病率较高肝脏疾病,并且正成为一个日益严重的公共卫生问题。NAFLD在人群中的发病率为14%~24%^[1]。NAFLD的临床特征主要表现为肝细胞内脂肪过度沉积,而这种临床病理特征并非酒精和其他明确肝损伤因素所致,与遗传易感性和胰岛素抵抗密切相关,包

括非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、单纯性脂肪肝 (simplicistic fatty liver, SFL) 及不可逆肝硬化^[2-3]。NAFLD 是一种与胰岛素抵抗、血脂异常、高血压及肥胖症等密切联系的代谢综合征^[4]。炎症反应和高脂饮食 (high-fat diet, HFD) 是促进 NAFLD 发生发展的重要因素。然而, NAFLD 的潜在机制仍未被完全了解。

有报道称, 核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 介导的炎症因子在 NAFLD 的发生发展中起重要作用。在 NAFLD 患者和 HFD 诱导的小鼠中观察到 NF- κ B 过表达^[5]。NF- κ B 可以被沉默信息调节因子 1 (sirtuin 1, Sirt1) 所调节, 有报道显示 Sirt1 还可以调节 HFD 小鼠的能量代谢^[6-7]。

中医药在治疗慢性疾病中具有显著优势, 特别是对肝脏疾病有很好的疗效^[8]。由于中医药现代化发展的趋势, 重要复方治疗慢性疾病越来越受到各方面的关注。中医名方当归芍药散出自《金匮要略》, 为理血剂。报道称当归芍药散对 NAFLD 有一定的治疗作用, 但具体作用机制尚不清楚。本文通过重点讨论当归芍药散对 NAFLD 大鼠的治疗作用, 并深入探讨其对 Sirt1/NF- κ B 信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂

人正常肝细胞 LO2 购自上海中乔新舟生物科技有限公司, 货号 ZQ0031。CCK-8、油酸 (oleic acid, OA) 购于大连美仑生物技术有限公司, 货号 MA0218-2、MB2405。白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) (货号: E-EL-M0073c)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6) (货号: E-ELN-M0044c) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) (货号: E-ELN-M0049c) ELISA 试剂盒购自 Elabscience 公司。丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、胆固醇 (cholesterol, TC) 检测试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。实验中使用到的抗体均购于美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.2 实验动物与造模给药

8 周龄体质量 250~300 g 雄性 SD 大鼠购自中国南京江宁青龙山动物养殖场, 合格证: SCXK (苏) 2016-0010。大鼠被饲养在 SPF 级动物房, 温度为 (23 \pm 2) °C, 光照/黑暗周期为 12 h。所有大鼠自由饮水饮食。所有实验操作按照宿州学院动物中心指南进行。

SD 大鼠随机分为 5 组 ($n=15$): 正常组、HFD 组、阿伐他丁组、当归芍药散低剂量组、当归芍药散高剂量组。除正常组外, 其他组大鼠喂养高脂饲料 6 周。正常组大鼠同时食用标准饮食。大鼠给予高脂肪饲料 (59.3% 脂肪饲料) 6 周, 正常组大鼠同时给予正常饲料。第 4 周末, 高脂组随机选取 3 只大鼠处死, 取肝脏组织做 HE 染色, 结果均示肝脏脂肪变性, 提示 NAFLD 模型已建立。从第 5 周开始, 阿伐他丁组大鼠灌胃给予 25 mg/kg 阿伐他丁 2 周, 当归芍药散低剂量组大鼠灌胃给予 12.9 g/kg 当归芍药散 2 周, 当归芍药散高剂量组

大鼠灌胃给予 25.8 g/kg 当归芍药散 2 周。最后一次给药结束后, 将实验组大鼠行麻醉法处理, 并取腹主动脉血。血液样品置于 4 °C 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 冻于 -80 °C 备用。在冰上速取肝脏样品, 用冰冷的盐水洗涤, 一部分被固定在 10% 的中性福尔马林中, 剩余部分储存于 -80 °C。

1.3 当归芍药散含药血清对 NAFLD 体外模型实验保护作用

1.3.1 当归芍药散含药血清制备 SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 10 只, 体质量 (200 \pm 10) g, 按成人临床等效剂量折算成大鼠用量, 大鼠每日给药剂量为 12.9 g/kg, 每天给药 2 次, 连续给药 4 d, 第 5 天给药后 1~2 h (给药前禁食不禁水 12 h) 后, 用 0.6% 戊巴比妥钠麻醉, 1 mL/100 g, 腹主动脉取血, 室温静置 2 h 后, 3 000 r/min 离心 10 min, 无菌分离血清, 56 °C 灭活 30 min, -80 °C 保存, 即当归芍药散含药血清 (DGSYS-HY)。使用时, 以 DMEM 不完全液稀释为所需浓度。

1.3.2 LO2 细胞转染 Sirt1 取对数生长期的 LO2 进行转染处理。转染前 1 天, 更换为无血清无抗体 DMEM 培养基。siRNA-Sirt1 以及阴性对照均由吉玛基因股份有限公司设计并合成 siRNA-Sirt1 序列: 5'-GAGACUGCGAUGUCAUAAUTT AUUAUGACAUCGCAGUCUCTT-3'; 阴性对照序列: 有义链: 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'; 反义链: 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。按照 Lipofectamine™ 2000 Reagent 说明书进行细胞转染操作, Lipofectamine™ 2000 Reagent 预先置于室温环境 5 min, 然后将 siRNA-Sirt1 以及阴性对照与 Lipofectamine™ 2000 Reagent 混合均匀, 室温下静置 20 min 后, 按照分组加入相应的细胞中, 放入 5% CO₂ 37 °C 细胞培养箱中, 转染 6 h 后, 更换为浓度为 10% 血清的 DMEM 培养基, 继续培养 48 h 后提取总 RNA, 采用 qPCR 检测转染效率, 转染后的细胞即为 LO2-siRNA-Sirt1 细胞。

1.3.3 分组给药 将 LO2 细胞分为正常对照组 (Control 组)、OA 组 (0.125 mmol/L)、OA+DGSYS-HY 组; 同时将 LO2-siRNA-Sirt1 细胞分为 LO2-siRNA-Sirt1 细胞对照组 (Control-si 组), OA+Control-si 组, OA+Control-si+DGSYS-HY 组。OA 造模 24 h 后加入 DGSYS-HY 24 h, 收集细胞上清与细胞后续检测。

1.4 血清与细胞上清 ALT 和 AST 含量的测定

检测 ALT 和 AST 的活性以确定肝损伤的程度。在实验方案结束时, 采集血清与细胞上清样品进行检测。ALT 和 AST 的活性按照制造商说明书进行测定。

1.5 血清与细胞上清中 TC 和 TG 含量的测定

根据标准方案, 用市售标准试剂盒检测血清与细胞上清中 TC、TG 的含量, 实验方案按照试剂盒说明书进行。

1.6 血清与细胞上清中炎症因子含量的测定

按照说明书方法, 使用 ELISA 试剂盒测定血清与细胞上清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的含量。

1.7 大鼠肝脏 HE 染色和免疫组化染色

安乐死处死动物后, 取肝组织作组织学检查, 将肝脏置于 10% 的福尔马林溶液中 48 h, 接着用分级酒精使其脱水, 二甲苯使其透明, 石蜡进行包埋, 最后 HE 染色。将肝脏固定在 4% 多聚甲醛溶液的标本包埋在常规石蜡中, 制备 5 μ m 厚度的切片, 根据免疫组织化学试剂盒的说明操作, Image Pro Plus 6.0 对结果进行分析。

1.8 肝脏组织细胞中相关蛋白表达量的测定

将冷冻的肝脏组织剪成碎片, 向组织碎片中加入裂解液, 用玻璃匀浆器在冰上匀浆, 直至充分裂解, 然后将其置

于 4℃ 离心机中, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清作为肝脏组织总蛋白。用 BCA 法检测蛋白浓度, 配置 SDS-PAGE 胶, 每孔加入 50 μ g 样品, 分离蛋白质, 80 V 跑电泳。将胶中的蛋白于 4℃ 和 300 mA 恒定电流下转移到聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上。转膜结束后, 将膜置于封闭液中室温封闭 2 h, 封闭后弃去封闭液, 加入第一抗体 4℃ 孵育过夜, 室温下孵育第二抗体 2 h, TBST 清洗膜, 每次 10 min, 清洗 3 次, ECL 试剂进行显影, Bio-Rad 系统显影成像。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 14.0 进行统计分析。实验结果用均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析的方法对组间数据进行分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 当归芍药散对大鼠血清 ALT 和 AST 含量的影响

与正常组比较, HFD 显著增加血清转氨酶的活性。与模型组比较, 当归芍药散显著降低血清 ALT 和 AST 活性, 结果见表 1。

表 1 当归芍药散对高脂大鼠血清 ALT 和 AST 活性的影响
($n=15; \bar{x} \pm s; U/L$)

组别	ALT	AST
正常组	32.71 \pm 4.29	23.85 \pm 3.57
HFD 组	128.64 \pm 8.44 ^a	87.63 \pm 5.88 ^a
阿伐他丁组	59.37 \pm 4.82 ^b	57.68 \pm 6.85 ^b
当归芍药散低剂量组	67.56 \pm 4.31 ^b	59.89 \pm 4.33 ^b
当归芍药散高剂量组	46.21 \pm 5.77 ^b	43.62 \pm 4.54 ^b

注: a, 与正常组相比, $P<0.01$; b: 与 HFD 组相比, $P<0.01$

2.2 当归芍药散对高脂大鼠肝脏 TC 和 TG 水平的影响

HFD 大鼠肝脏中 TG 和 TC 的水平明显高于正常组大鼠。与模型组比较, 当归芍药散能显著降低 HFD 大鼠血清中 TG 与 TC 含量。结果见表 2。

2.3 当归芍药散对高脂大鼠血清炎症因子水平的影响

与正常组大鼠比较, HFD 组大鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量显著增加。与 HFD 组比较, 当归芍药散显著降

低血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量。结果见表 3。

表 2 当归芍药散对高脂大鼠肝脏脂质水平的影响
($n=15; \bar{x} \pm s; U/L$)

组别	TC	TG
正常组	2.46 \pm 0.74	4.33 \pm 1.62
HFD 组	5.83 \pm 1.18 ^a	10.73 \pm 2.52 ^a
阿伐他丁组	2.78 \pm 0.69 ^b	4.62 \pm 1.08 ^b
当归芍药散低剂量组	2.94 \pm 0.45 ^b	5.73 \pm 0.44 ^b
当归芍药散高剂量组	2.02 \pm 0.33 ^b	2.32 \pm 0.54 ^b

注: a, 与正常组比较, $P<0.01$; b: 与 HFD 组比较, $P<0.01$

表 3 当归芍药散对高脂大鼠血清炎症细胞因子的影响
($n=15; \bar{x} \pm s; pg/mL$)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α
正常组	24.54 \pm 4.32	32.43 \pm 7.52	47.62 \pm 4.94
HFD 组	87.71 \pm 5.56 ^a	96.72 \pm 7.44 ^a	121.57 \pm 6.82 ^a
阿伐他丁组	53.67 \pm 4.98 ^b	52.87 \pm 4.95 ^b	78.58 \pm 6.49 ^b
当归芍药散低剂量组	58.62 \pm 4.44 ^b	61.54 \pm 4.21 ^b	68.81 \pm 4.26 ^b
当归芍药散高剂量组	45.27 \pm 4.21 ^b	49.62 \pm 4.48 ^b	52.72 \pm 4.11 ^b

注: a, 与正常组比较, $P<0.01$; b: 与 HFD 组比较, $P<0.01$

2.4 当归芍药散对高脂大鼠肝组织病理变化的影响

在正常大鼠的肝组织中观察到稀有的生理损伤 (图 1)。HFD 刺激大鼠肝脏导致胞质内脂滴积聚和炎性细胞浸润。与 HFD 组比较, 当归芍药散显著改善病理学改变。

2.5 当归芍药散对高脂大鼠肝脏 Sirt1 蛋白表达水平的影响

与正常组大鼠比较, HFD 组大鼠肝脏 Sirt1 显著降低。与 HFD 组比较, 当归芍药散显著增加肝脏 Sirt1 蛋白水平 (图 2)。

2.6 当归芍药散对高脂大鼠肝组织 Sirt1/NF- κ B 通路相关蛋白表达的影响

为探讨当归芍药散治疗 NAFLD 的潜在机制, 采用蛋白质印迹法分析 Sirt1、p-NF- κ Bp65、p-I κ B α 的蛋白表达。如图 3 与表 4 所示, HFD 刺激显著下调 Sirt1 的表达, 并上调 p-NF- κ Bp65、p-I κ B α 的表达。与模型组比较, 当归芍药散能显著增加 Sirt1 的表达, 降低 p-NF- κ Bp65、p-I κ B α 的表达。

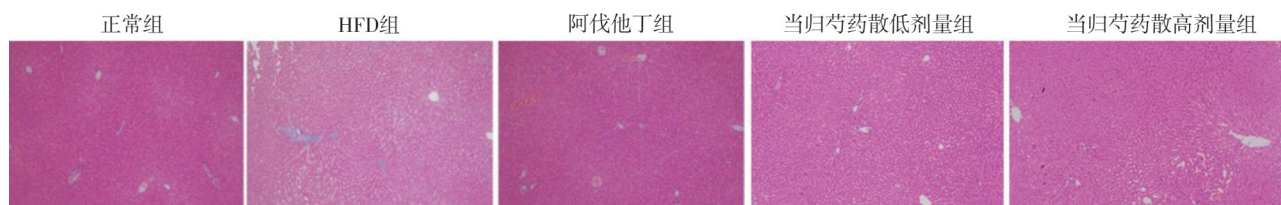


图 1 当归芍药散对高脂大鼠肝组织病理变化的影响 (200 \times)

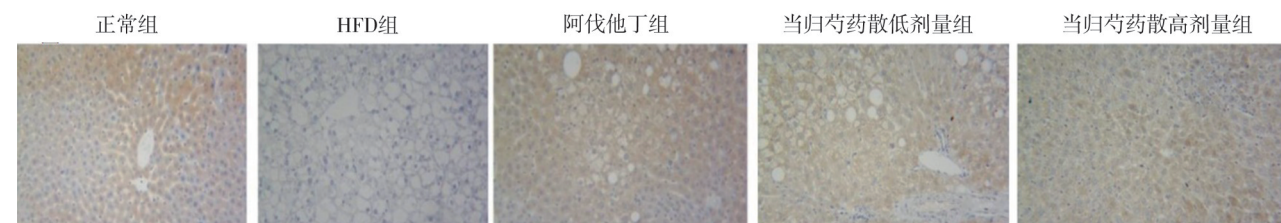


图 2 当归芍药散对高脂大鼠肝脏 Sirt1 免疫组化的影响 (200 \times)

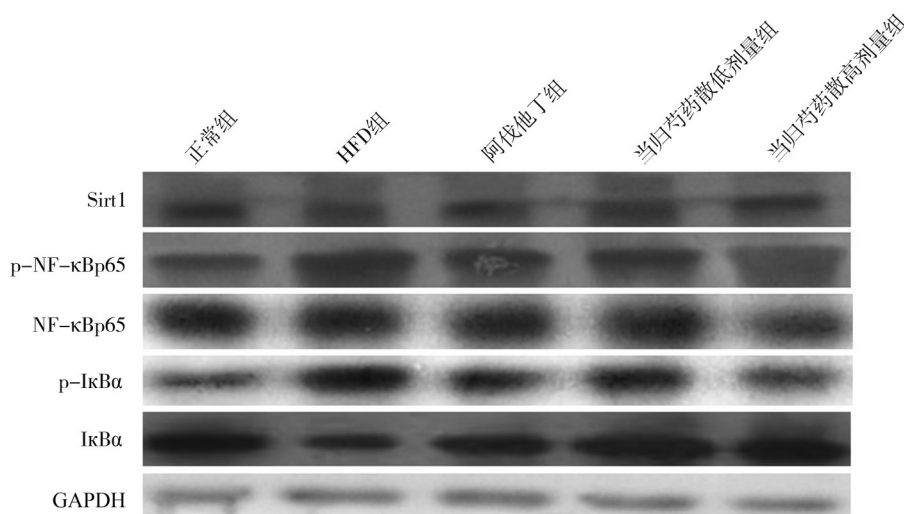


图3 当归芍药散对高脂大鼠肝组织 Sirt1/NF-κB 通路蛋白表达的影响

表4 当归芍药散对高脂大鼠肝组织 Sirt1/NF-κB 通路蛋白灰度的影响 ($n=3; \bar{x} \pm s$)

组别	Sirt1/ GAPDH	p-p65/ p65	p-IκBα/ IκBα
正常组	0.76 ± 0.26	0.36 ± 0.09	0.39 ± 0.11
HFD 组	0.38 ± 0.08 ^a	0.84 ± 0.13 ^a	0.94 ± 0.23 ^a
阿伐他丁组	0.54 ± 0.14 ^b	0.47 ± 0.12 ^b	0.54 ± 0.18 ^b
当归芍药散低剂量组	0.58 ± 0.17 ^b	0.51 ± 0.11 ^b	0.57 ± 0.16 ^b
当归芍药散高剂量组	0.47 ± 0.13 ^b	0.48 ± 0.12 ^b	0.48 ± 0.15 ^b

注: a, 与正常组比较, $P < 0.01$; b: 与 HFD 组比较, $P < 0.01$

2.7 当归芍药散含药血清对于非酒精性脂肪肝体外模型实验保护作用

2.7.1 DGSYS-HY 对 LO2 细胞上清 AST 与 ALT 的影响 与 Control 组比较, OA 组细胞上清 AST、ALT 显著升高; 与 OA 组比较, OA+DGSYS-HY 组细胞上清 ALT、AST 显著下降。经过 Sirt1 转染后, DGSYS-HY 药效被抵消(图4)。

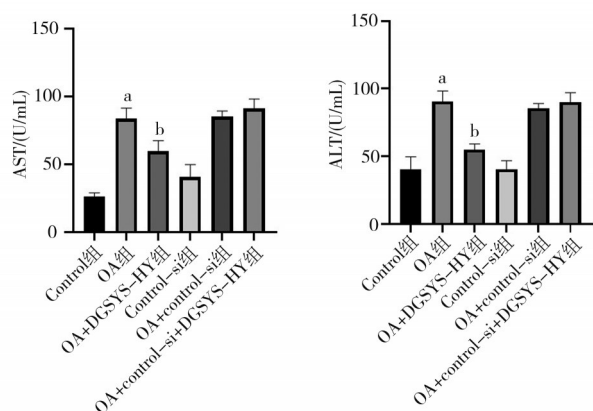
注: a, 与 Control 组比较, $P < 0.01$; b: 与 OA 组比较, $P < 0.01$

图4 DGSYS-HY 对 LO 细胞上清 AST 与 ALT 的影响

2.7.2 DGSYS-HY 对 LO2 细胞上清 TC、TG 的影响 与 Control 组比较, OA 组细胞上清 TC、TG 显著升高; 与 OA 组比较, OA+DGSYS-HY 组细胞上清 TC、TG 显著下降。经过 Sirt1 转染后, DGSYS-HY 药效被抵消(图5)。

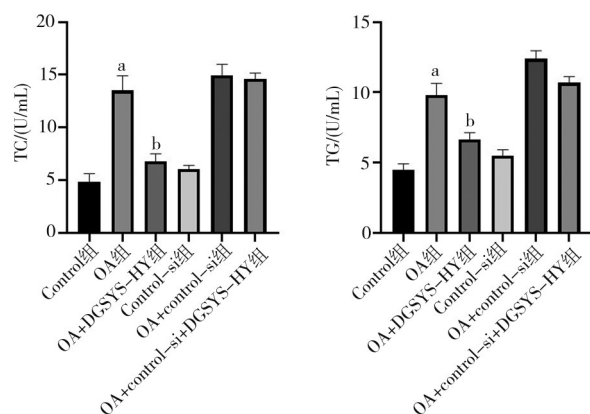
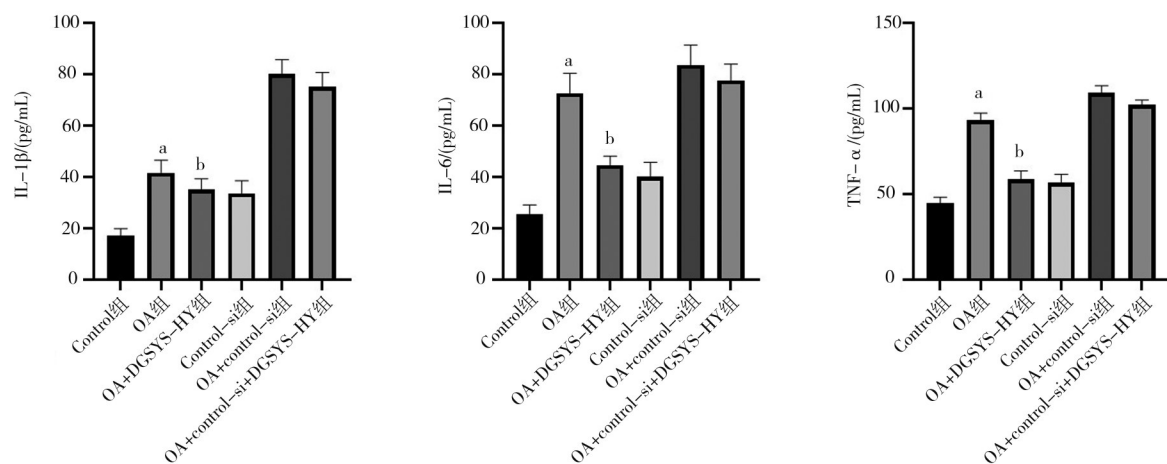
注: a, 与 Control 组比较, $P < 0.01$; b: 与 OA 组比较, $P < 0.01$

图5 DGSYS-HY 对 LO2 细胞上清 TC、TG 的影响

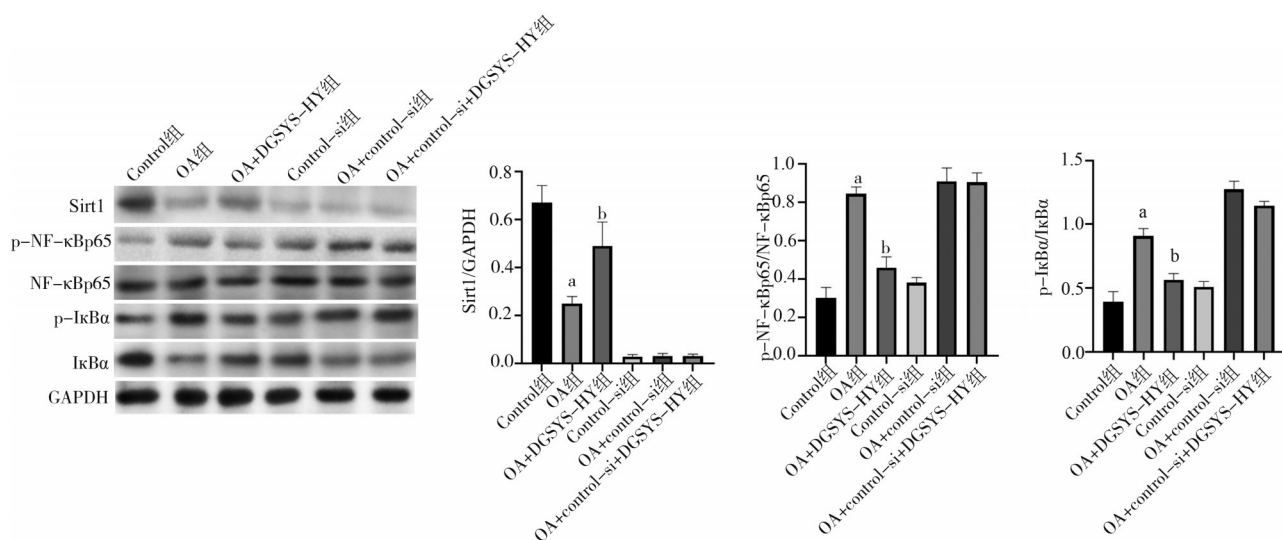
2.7.3 DGSYS-HY 对 LO2 细胞上清炎症因子的影响 与 Control 组比较, OA 组细胞上清 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 显著升高; 与 OA 组比较, OA+DGSYS-HY 组细胞上清 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 显著下降。经过 Sirt1 转染后, DGSYS-HY 药效被抵消(图6)。

2.7.4 DGSYS-HY 对 LO2 细胞 Sirt1/NF-κB 通路相关蛋白表达的影响 与 Control 组比较, OA 组细胞 Sirt1 显著降低、p-NF-κBp65、p-IκBα 显著升高; 与 OA 组比较, OA+DGSYS-HY 组细胞 Sirt1 显著升高、p-NF-κBp65、p-IκBα 显著降低。经过 Sirt1 转染后, DGSYS-HY 药效被抵消(图7)。



注:a,与Control组比较, $P<0.01$;b:与OA组比较, $P<0.01$

图6 DGSYS-HY对LO2细胞上炎症因子的影响



注:a,与Control组比较, $P<0.01$;b:与OA组比较, $P<0.01$

图7 DGSYS-HY对LO2细胞Sirt1/NF-κB通路相关蛋白表达的影响

3 讨论

NAFLD是一种以肝细胞脂肪变性、肝纤维化及不可逆肝硬化为临床表现的肝脏疾病^[8-9]。肝脏脂肪变性是由于脂质的输入(脂肪的摄取及生成)与输出(脂质的氧化和输出)不平衡引起的。在肝细胞中,如果游离脂肪酸水平升高,将会导致 β -氧化降低,从而进一步加剧脂质累积^[10-11]。因此,结合高脂饮食对大鼠NAFLD的影响,本研究采用HFD法诱导非酒精性脂肪肝大鼠模型。

过量的体脂不仅会干扰碳水化合物和脂质代谢,还会导致代谢和免疫反应失衡,从而导致慢性炎症状态^[12-13]。像这样的代谢也会影响肝脏、脂肪

和骨骼肌等代谢器官的功能。HFD会使体内脂肪含量增加,从而增加血液中游离脂肪酸的含量。当游离脂肪酸的累积量超过肝线粒体的氧化能力时,就会生成大量甘油三酯,并将其分泌到血液中,从而提高血液中甘油三酯、总胆固醇和极低密度脂蛋白的水平^[14-15]。游离脂肪酸作为一种刺激因素,也能增加反映肝脏损伤状态的谷草转氨酶和谷丙转氨酶^[16]。研究表明,HFD大鼠肝脏中甘油三酯和总胆固醇水平明显高于对照组,而当归芍药散明显降低甘油三酯和总胆固醇的含量。此外,HFD刺激导致谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性显著升高。不出所料,当归芍药散能有效抑制血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性。

Sirt1 隶属于 sirtuin 家族, 因其对多种疾病的显著作用而持续受到密切关注^[17]。最新研究发现 Sirt1 在 NAFLD 中发挥重要作用。过表达 Sirt1 可抑制高脂饮食引起的肝脏脂质沉积变性炎症反应^[18]。此外, Sirt1 还能明显抑制 NF- κ B 的激活^[19]。近来有研究表明 NF- κ B 在脂肪性肝炎中是一种重要的介质^[20]。既往研究提出高脂饮食可激活肝脏中的 NF- κ B, 并可引起肝脏胰岛素抵抗^[21]。另外有文献报道, 在 HFD 诱导 NAFLD 的早期, 游离脂肪酸就能激活肝细胞中的 NF- κ B^[22], 这说明肝脏炎症是 NAFLD 发病的重要因素。本研究发现高脂饮食可明显抑制 Sirt1 表达, 但会上调 p-I κ B α 、p-NF- κ Bp65 表达; 而当归芍药散能增加 Sirt1 表达, 降低 p-NF- κ Bp65、p-I κ B α 表达。

为了验证当归芍药散对 Sirt1 的作用, 本研究通过制备当归芍药散含药血清, 同时对 LO2 进行体外油酸造模, 并对其进行 Sirt1 转染。结果发现, 当归芍药散含药血清能显著降低 AST、ALT、TG、TC、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平, 同时增加 Sirt1 表达, 抑制 p-NF- κ Bp65、p-I κ B α 表达; 转染后 Sirt1 后, 当归芍药散药效被抵消, 说明当归芍药散可能通过 Sirt1 发挥药理活性。

本研究表明, 当归芍药散治疗 HFD 大鼠的 NAFLD 效果明确, 表现为脂质含量降低以及组织病理学变化与炎症反应改善。此外, 当归芍药散治疗 HFD 可能是调控 Sirt1 介导炎症蛋白信号。为了探索背后的作用机制, 需要进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Weiß J, Rau M, Geier A. Non-alcoholic fatty liver disease[J]. Deutsches Ärzteblatt Int, 2014, 111(26):447-452.
- [2] Videla LA, Pettinelli P. Misregulation of PPAR functioning and its pathogenic consequences associated with nonalcoholic fatty liver disease in human obesity[J]. PPAR Res, 2012, 2012:107434.
- [3] Lee J, Kim Y, Friso S, et al. Epigenetics in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Mol Aspects Med, 2017, 54:78-88.
- [4] Jornayvaz FR, Samuel VT, Shulman GI. The role of muscle insulin resistance in the pathogenesis of atherogenic dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease associated with the metabolic syndrome[J]. Annu Rev Nutr, 2010, 30:273-290.
- [5] Liu ZX, Dou WJ, Ni Z, et al. Deletion of Nrf2 leads to hepatic insulin resistance via the activation of NF- κ B in mice fed a high-fat diet[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(2):1323-1331.
- [6] Choi YH, Bae JK, Chae HS, et al. α -mangostin regulates hepatic steatosis and obesity through SirT1-AMPK and PPAR γ pathways in high-fat diet-induced obese mice[J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(38):8399-8406.
- [7] Oliveira Andrade JM, Paraíso AF, Garcia ZM, et al. Cross talk between angiotensin-(1-7)/Mas axis and sirtuins in adipose tissue and metabolism of high-fat feed mice[J]. Peptides, 2014, 55:158-165.
- [8] Zain SM, Mohamed Z, Mahadeva S, et al. Does polymorphism in patatin-like phospholipase 3 gene (PNPLA3) confer risk of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in multiethnic Malaysian population? [J]. Drug Metab Rev, 2011, 43(1):56-57.
- [9] Baratta F, Pastori D, Tozzi G, et al. Lysosomal acid lipase activity and liver fibrosis in the clinical continuum of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Liver Int, 2019, 39(12):2301-2308.
- [10] Ezquerro S, Méndez-Giménez L, Becerril S, et al. Acylated and desacyl ghrelin are associated with hepatic lipogenesis, β -oxidation and autophagy: role in NAFLD amelioration after sleeve gastrectomy in obese rats[J]. Sci Rep, 2016, 6:39942.
- [11] Liu J, Wang PP, Douglas SL, et al. Impact of high-fat, low-carbohydrate diet on myocardial substrate oxidation, insulin sensitivity, and cardiac function after ischemia-reperfusion[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2016, 311(1):H1-H10.
- [12] Plubell DL, Wilmarth PA, Zhao YQ, et al. Extended multiplexing of tandem mass tags (TMT) labeling reveals age and high fat diet specific proteome changes in mouse epididymal adipose tissue[J]. Mol Cell Proteomics, 2017, 16(5):873-890.
- [13] Karbaschi R, Zardooz H, Khodagholi F, et al. Maternal high-fat diet intensifies the metabolic response to stress in male rat offspring[J]. Nutr Metab, 2017, 14:20.
- [14] Priscilla DH, Jayakumar M, Thirumurugan K. Flavanone naringenin: an effective antihyperglycemic and antihyperlipidemic nutraceutical agent on high fat diet fed streptozotocin induced type 2 diabetic rats [J]. J Funct Foods, 2015, 14:363-373.
- [15] Chen J, Li J, Wang J, et al. Association of serum VLDL level with hyperhomocysteinemia in hypertensive patients: a cross-sectional study [J]. Clin Exp Hypertens, 2021, 43(1):26-33.
- [16] Park HS, Song JW, Park JH, et al. TXNIP/VDUP1 attenuates steatohepatitis via autophagy and fatty acid oxidation[J]. Autophagy, 2021, 17(9):2549-2564.
- [17] Ren YY, Gu YH, Wang W, et al. Expression of the significance of silent information regulator type-1 in angioimmunoblastic T-cell lymphoma is greater association with tumorigenesis and has strong implications for adverse prognosis[J]. Cell Cycle, 2016, 15(12):1545-1551.
- [18] Li Y, Xu SQ, Giles A, et al. Hepatic overexpression of SIRT1 in mice attenuates endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the liver[J]. FASEB J, 2011, 25(5):1664-1679.
- [19] Zhang HS, Chen XY, Wu TC, et al. MiR-34a is involved in Tat-induced HIV-1 long terminal repeat (LTR) transactivation through the SirT1/NF- κ B pathway[J]. FEBS Lett, 2012, 586(23):4203-4207.
- [20] dela Peña A, Leclercq I, Field J, et al. NF- κ B activation, rather than TNF, mediates hepatic inflammation in a murine dietary model of steatohepatitis[J]. Gastroenterology, 2005, 129(5):1663-1674.
- [21] Wang XN, Zhang R, She ZG, et al. Interferon regulatory factor 3 constrains IKK β /NF- κ B signaling to alleviate hepatic steatosis and insulin resistance[J]. Hepatology, 2014, 59(3):870-885.
- [22] Song M, Meng LK, Liu XX, et al. Feprazone prevents free fatty acid (FFA)-induced endothelial inflammation by mitigating the activation of the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. ACS Omega, 2021, 6(7):4850-4856.

(责任编辑:周一青)