

# 绞股蓝总苷颗粒改善高脂血症 C57BL/6J 小鼠脂代谢的研究

张瑶丹<sup>1</sup>, 姜新宇<sup>2</sup>, 操兰洁<sup>3</sup>, 王杰<sup>3</sup>, 蒋翠花<sup>4</sup>, 赵梦鸽<sup>3</sup>, 张健<sup>4</sup>, 殷志琦<sup>3\*</sup>

(<sup>1</sup>万邦德制药集团杭州医药技术有限公司, 杭州 310000; <sup>2</sup>湖南华宝通制药有限公司, 长沙 410331; <sup>3</sup>中国药科大学中药学院中药制剂系 & 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009; <sup>4</sup>江苏省中医药研究院转化医学实验室, 南京 210028)

**摘要** 为评价绞股蓝总苷颗粒以及其与他汀联用的降血脂作用, 采用高脂饲料诱导构建高脂血症 C57BL/6J 小鼠模型。随机分为空白组、模型组、阳性药组 (Lip, 10 mg/kg)、绞股蓝总苷颗粒低、中、高剂量组 (L、M、H, 90, 120, 180 mg/kg), 联合组 (Lip + H, 180 mg/kg + 10 mg/kg)。连续给药 4 周后检测血脂成分、血清 ALT、AST 及载脂蛋白 B (Apo B) 含量, H&E 染色观察小鼠肝脏病理变化, 利用 RT-PCR 法和 Western blot 法测定三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ABCA1)、肝 X 受体 (LXR $\alpha$ )、胆固醇 7 $\alpha$ -羟化酶 (CYP7A1) 和 B 族 I 型清道夫受体 (SR-BI) 等肝脏胆固醇代谢关键因子蛋白、基因表达水平。结果显示绞股蓝总苷颗粒能显著降低小鼠体重、腹部脂肪质量及血清总胆固醇 (TC)、AST 水平, 并修复受损小鼠肝细胞; 联合组能显著降低小鼠 TC 水平, 效果优于绞股蓝总苷颗粒高剂量组和阳性药单用组。此外, 绞股蓝总苷颗粒能显著升高 ABCA1 的蛋白水平, 同时上调 ABCA1、CYP7A1 和 SR-BI 的基因表达。实验结果表明, 绞股蓝总苷颗粒能够显著降低血脂, 且与阿托伐他汀联用后降脂效果提高, 并可降低血清转氨酶, 初步探索其降脂机制可能是通过参与胆固醇逆转运调节 TC 含量。

**关键词** 绞股蓝; 绞股蓝总苷颗粒; 联合用药; 高脂血症; 胆固醇逆转运

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2019)06-0713-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20190612

引用本文 张瑶丹, 姜新宇, 操兰洁, 等. 绞股蓝总苷颗粒改善高脂血症 C57BL/6J 小鼠脂代谢的研究 [J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(6): 713–720.

Cite this article as: ZHANG Yaodan, JIANG Xinyu, CAO Lanjie, et al. Gypenoside granules improved lipid metabolism in C57BL/6J mice with hyperlipidemia [J]. J China Pharm Univ, 2019, 50(6): 713–720.

## Gypenoside granules improved lipid metabolism in C57BL/6J mice with hyperlipidemia

ZHANG Yaodan<sup>1</sup>, JIANG Xinyu<sup>2</sup>, CAO Lanjie<sup>3</sup>, WANG Jie<sup>3</sup>, JIANG Cuihua<sup>4</sup>, ZHAO Mengge<sup>3</sup>, ZHANG Jian<sup>4</sup>, YIN Zhiqi<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Wanbangde Pharmaceutical Group Hangzhou Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Hangzhou 310000; <sup>2</sup> Hunan Huabaochang Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410331; <sup>3</sup> Department of TCMs Pharmaceuticals & State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; <sup>4</sup> Laboratory of Translational Medicine, Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

**Abstract** To investigate the hypolipidemic effects of gypenosides granules and its combination with lipitor, a model of hyperlipidaemia C57BL/6J mice was established by high-fat diet feeding for 4 weeks. The mice were randomly divided into blank group, model group, lipitor group (10 mg/kg of lipitor), low dose group (90 mg/kg of gypenosides granules), medium dose group (120 mg/kg of gypenosides granules), high dose group (180 mg/kg of gypenosides granules) and the combination group (180 mg/kg of gypenosides granules and 10 mg/kg of lipitor). After 4 weeks of continuous administration, the contents of serum lipid indexes, serum ALT, AST and apolipoprotein B (ApoB) were measured. The liver tissues of mice were observed by H&E staining. The expression levels of key factors involved in hepatic cholesterol metabolism were observed by RT-PCR and Western blot

收稿日期 2019-04-03 \*通信作者 Tel: 025-86185371 E-mail: chyzq2005@126.com

基金项目 江苏省自然科学基金资助项目 (No. BK20161460); 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD)

methods, such as adenosine triphosphate combined box transporter A1 ( ABCA1 ), liver X receptor ( LXR $\alpha$  ), cholesterol 7 alpha hydroxylase ( CYP7A1 ) and type BI scavenger receptor ( SR-BI ). The results revealed that gypenosides granules significantly decreased the mice body weight, total abdominal fat area and the level of serum total cholesterol ( TC ). The combination group showed a more significant reduction in TC level than the other administration groups. Moreover, gypenosides granules treatment remarkably increased the protein expression of ABCA1 and up-regulated the mRNA expression of ABCA1, CYP7A1 and SR-BI . The above results suggest that gypenosides granules can significantly reduce blood lipid contents, and the combination therapy with lipitor show better the lipid-lowering effect. Meanwhile, gypenosides granules can decrease the level of serum transaminase. Preliminary exploration suggests the lipid-lowering mechanism of gypenosides granules may be involved in cholesterol reversal to regulate the level of TC .

**Key words** *Gynostemma pentaphyllum*; gypenosides granules; drug combination; hyperlipidemia; reverse cholesterol transport

This study was supported by the Natural Science Foundation of Jiangsu Province ( No. BK20161460 ), and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions ( PAPD )

高脂血症极易诱发动脉粥样硬化、冠心病等其他心脑血管疾病,严重威胁患者健康,据统计,预计到2020年,心脑血管疾病的病死率会达到37%<sup>[1]</sup>。目前临床一线用药为他汀类,主要通过竞争性抑制内源性胆固醇合成限速酶即HMG-CoA还原酶,阻断细胞内羟甲戊酸代谢途径,使细胞内胆固醇合成减少<sup>[2]</sup>。但许多患者接受他汀类药物治疗后达不到美国国家卫生研究院提出的降脂目标,且部分患者会产生耐药性,多项临床研究报道他汀类药物在降脂的同时可能会引起体内转氨酶升高,从而影响肝功能<sup>[3-4]</sup>。天然药物具有多靶点、多机制和整体协同的作用特点,对于高脂血症等长期慢性疾病的治疗具有可长期服用,不良反应小等优势,因此成为降脂药物开发应用的关注焦点。将天然药物与化学药联合用药,具有减毒增效的潜力,是临床降脂用药趋势和今后研究的重点<sup>[5-6]</sup>。

绞股蓝[*Gynostemma Pentaphyllum* ( Thunb. ) Makino]是葫芦科绞股蓝属植物,民间称其为“不老药草”,又名“南方人参”,主要含有人参皂苷Rb<sub>1</sub>等多种皂苷类成分<sup>[7]</sup>。1986年国家科委在“星火计划”中,把绞股蓝列为待开发的“名贵中药材”之首。目前药理研究发现绞股蓝皂苷具有降血脂、保肝、抗炎、抗氧化、调节免疫、抗肿瘤及保护心脑血管等多种药理活性<sup>[8-9]</sup>。

本实验以绞股蓝总皂苷颗粒为评估对象,采用高脂饲料诱导高脂血症C57BL/6J小鼠模型,评估其对高脂血症C57BL/6J小鼠的降脂作用以及对血

清转氨酶的影响,尤其考察该产品与阿托伐他汀联合用药的降脂药效和安全性,并初步探索其调节脂质代谢相关机制。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

总胆固醇测定试剂盒(批号20160729)、甘油三酯测定试剂盒(批号20160729)、高密度脂蛋白试剂盒(批号20160729)、低密度脂蛋白试剂盒(批号20160729)、谷氨酸转氨酶测试盒(批号20160729)、天冬氨酸转氨酶测试盒(批号20160729)、鼠源载脂蛋白B ELISA试剂盒(批号20160729),以上均为南京建成生物工程研究所产品。阿托伐他汀片为辉瑞制药有限公司产品(批号20151126)。

绞股蓝总皂苷颗粒[湖南华宝通制药有限公司;批号:20160302;规格:每袋装3g(含绞股蓝皂苷45mg)];临床用药剂量:一次1袋,一日3次;本研究试验动物使用剂量为文献报道常规试验剂量<sup>[10]</sup>。药物以0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液稀释,4℃保存。

### 1.2 动物及饲料

SPF级C57BL/6J小鼠,体重16~18g,雄性,购自南通大学动物中心(许可证号:SCXK(苏)2014-0001),所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。高脂饲料(编号:TP24200,3.4 kCal/g,其中,蛋白质热量22%,脂肪13%,碳水化合物65%)由南通特洛菲饲料科技有限公司生产。

### 1.3 仪器

Synergy H1 酶联免疫检测仪(美国伯腾仪器有限公司);Allegra 64R 超速控温离心机(美国贝克曼库尔特有限公司);Axio Observer A1 荧光倒置显微镜(德国卡尔·蔡司股份公司)。

## 2 方法

### 2.1 小鼠模型制备及分组

C57BL/6J 小鼠适应性喂养 1 周后,按体重随机分组。正常对照组小鼠(15 只)给予基础饲料喂养,高脂血症组小鼠(105 只)给予高脂饲料喂养造模。造模 4 周后检测血脂指标,判断模型是否成功。将高脂造模小鼠(105 只)按血脂水平随机分为 7 组,每组 15 只,各组饲养条件不变。空白组、模型组,灌胃等体积 0.05% CMC-Na 溶液;阳性药组(Lip),给予阿托伐他汀溶液 10 mg/kg;绞股蓝总苷颗粒低、中、高剂量组(L, M, H),分别给予绞股蓝总苷颗粒 90、120、180 mg/kg(以绞股蓝皂苷计);联合组(Lip + H)给予绞股蓝总苷颗粒 180 mg/kg + 阿托伐他汀 10 mg/kg,持续给药 4 周,实验期间所有动物自由饮水及饮食。

### 2.2 生理状况、摄食量、体重变化

每日监测小鼠健康情况,包括精神状况、日常

活动、进水情况及毛发颜色等。每天定量给予饲料,并记录剩余饲料,每周称量小鼠体重。平均摄食量=(给予饲料-剩余饲料)/小鼠只数,平均体重=各组小鼠体重之和/小鼠只数。

### 2.3 样本采集与保存

2.3.1 血清样本 给药 4 周后,小鼠禁食 12 h,眼眶取血 0.2~0.3 mL,3 000 r/min 离心 10 min 分离血清样本,-80 °C 保存。

2.3.2 组织样本 给药 4 周后,小鼠禁食 12 h,处死后立即取出肝及腹部、附睾、肾周脂肪组织,生理盐水冲洗,纱布吸干后称重,-80 °C 保存。

### 2.4 血清生化指标的测定

给药 4 周后,检测血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C、ApoB 含量;肝功能指标 ALT、AST 含量。

### 2.5 小鼠胰腺组织苏木精-伊红(HE)染色法

小鼠处理后,将福尔马林固定好的胰腺组织经石蜡切片后,HE 染色,然后置于显微镜镜下,观察胰腺组织变化。

### 2.6 肝脏 TC 代谢相关基因表达水平检测

取各组肝组织 100 mg,液氮中磨碎,加入缓冲液裂解,提取总 RNA。用 RT-PCR 法测定相关基因表达量(表 1)。

**Table 1** Quantitative real-time PCR primers

Gene	Forward primer	Reverse primer
LXR $\alpha$	5'-TGGAGACATCTCGGAGGTAC-3'	5'-AGCAATGAGCAAGGCAAAC-3'
ABCA1	5'-AAGAACAGCTGGAAACAGG-3'	5'-CACCGTGTCACTCTCATGGT-3'
CYP7A1	5'-GACATCATAGCTTTACCCACA-3'	5'-GGTAGCTTTGTCTTCCCCTTT-3'
LDLR	5'-TCAGGCTAAAGCTCAGCTCC-3'	5'-TCTCATTTCTCTGCCAGCA-3'
ABCG5	5'-AGCAAGGAACGGAAATAGA-3'	5'-CAGGAGAACACCCAGTTAGAG-3'
ABCG8	5'-GATAACAGCCGCCCTCTGTT-3'	5'-GCCGCTTCCAGTTCATAG-3'
SR-BI	5'-CTCCCATCCTCACTCCTCAA-3'	5'-AATGCCTGCGACAGATTCA-3'
SREBP-2	5'-GTCCTGAGCGTCTTGTGA-3'	5'-CCAGGCAGGTTGTAGGTT-3'

### 2.7 肝脏 TC 代谢相关蛋白表达水平检测

取各组肝组织 100 mg,用组织裂解液裂解并匀浆,然后在 4 °C 以 15 000 r/min 离心 30 min,取上清液作样本,用 Western blot 检测 LXR $\alpha$  和 ABCA1 蛋白表达水平。

### 2.8 统计学处理

所有实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 19.0 进行统计,多组间比较采用单因素方差 ANOVA 法分析比较,组间比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$  视为有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 绞股蓝总苷颗粒对小鼠体重、摄食量及相对脏器质量的影响

结合摄食量和体重变化观察(表 2、表 3),高脂饲料喂养 4 周后,模型组小鼠较空白组摄食量差异不大,但小鼠体重明显上升,第 5 周后模型组小鼠体重较空白组具有显著性差异( $P < 0.05$ )。给药后,绞股蓝总苷颗粒低、中、高剂量组小鼠较模型组小鼠体重均有下降趋势,在第 7、第 8 周时各组

小鼠体重较模型组均显著性降低( $P < 0.05$ )。如表4所示,小鼠经高脂饲料喂养后,模型组小鼠的肝、肾周脂肪、附睾脂肪、腹部脂肪较空白组重量显著增加( $P < 0.05$ )。给药干预后,联合组小鼠的腹

部脂肪和附睾脂肪重量以及绞股蓝总苷颗粒低剂量组和高剂量组小鼠的腹部脂肪重量较模型组明显降低( $P < 0.05$ )。以上结果提示绞股蓝总苷颗粒可以改善高脂饮食导致的小鼠内脏脂肪沉积。

**Table 2** Weekly average food intake of C57BL/6J mice ( $n = 8\text{--}12$ )

Group	Food intake/g							
	1	2	3	4	5	6	7	8 week
Blank	13.1	14.3	16.8	17.3	12.6	14.5	13.5	9.7
Model	11.5	14.1	16.5	18.2	17.2	13.7	13.1	12.1
Lip	10.0	13.9	17.8	17.9	15.3	12.8	10.9	12.9
L	10.7	15.2	17.3	18.9	16.3	10.5	11.5	11.8
M	11.1	11.5	18.0	17.1	18.4	13.5	11.3	8.8
H	13.3	13.1	19.0	18.6	15.6	8.9	11.5	10.9
Lip + H	11.8	13.3	15.1	18.0	15.5	9.9	11.9	10.0

Lip: 10 mg/(kg·d) of Lipitor; L: 90 mg/(kg·d) of gypenosides granules; M: 120 mg/(kg·d) of gypenosides granules; H: 180 mg/(kg·d) of gypenosides granules; Lip + H: 180 mg/(kg·d) of gypenosides granules and 10 mg/(kg·d) of lipitor

**Table 3** Weekly average body weight of C57BL/6J mice ( $\bar{x} \pm s, n = 8\text{--}12$ )

Group	Body weight/g							
	1	2	3	4	5	6	7	8 week
Blank	22.73 ± 1.35	23.26 ± 1.55	24.18 ± 1.65	24.84 ± 1.80	24.89 ± 2.04	24.76 ± 1.44	25.55 ± 1.25	25.55 ± 1.36
Model	23.97 ± 1.23	24.54 ± 1.93	25.81 ± 1.76	26.6 ± 1.33	26.33 ± 1.74 <sup>#</sup>	26.9 ± 1.69 <sup>#</sup>	28.4 ± 1.76 <sup>#</sup>	28.4 ± 1.31 <sup>##</sup>
Lip	22.95 ± 1.55	23.22 ± 1.80	25.22 ± 1.53	26.61 ± 1.39	26.18 ± 1.23	26.17 ± 2.00	27.58 ± 2.16	27.58 ± 2.37
L	23.28 ± 1.1	24.09 ± 2.07	24.98 ± 1.56	25.78 ± 2.27	25.39 ± 2.59	24.83 ± 2.86 <sup>*</sup>	24.03 ± 2.01 <sup>*</sup>	24.03 ± 2.37 <sup>*</sup>
M	23.6 ± 1.71	23.38 ± 1.39	25.02 ± 1.54	26.1 ± 1.63	26.23 ± 1.83	26.23 ± 2.26	26.44 ± 2.89 <sup>*</sup>	26.44 ± 2.76 <sup>*</sup>
H	24.1 ± 0.88	23.87 ± 1.38	24.99 ± 1.70	26.97 ± 1.57	26.33 ± 1.26	26.2 ± 1.61	27.71 ± 0.83 <sup>*</sup>	27.71 ± 0.85 <sup>*</sup>
Lip + H	23.95 ± 1.29	24.71 ± 1.22	25.02 ± 1.85	26.37 ± 1.93	26.44 ± 1.4	26.42 ± 3.53	24.8 ± 3.94	24.8 ± 3.78

<sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs blank group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group

**Table 4** Tissue weight of C57BL/6J mice ( $\bar{x} \pm s, n = 8\text{--}12$ )

Group	Liver/g	Belly fat/g	Perirenal fat/g	Epididymis fat/g
Blank	0.91 ± 0.16	0.09 ± 0.02	0.05 ± 0.00	0.47 ± 0.12
Model	1.14 ± 0.19 <sup>#</sup>	0.20 ± 0.09 <sup>#</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>#</sup>	0.76 ± 0.25 <sup>#</sup>
Lip	1.13 ± 0.21	0.16 ± 0.09	0.08 ± 0.03	0.86 ± 0.33
L	1.02 ± 0.09	0.11 ± 0.05 <sup>*</sup>	0.06 ± 0.02	0.67 ± 0.22
M	1.08 ± 0.18	0.17 ± 0.14	0.06 ± 0.02	0.67 ± 0.19
H	1.12 ± 0.23	0.12 ± 0.04 <sup>*</sup>	0.08 ± 0.03	0.68 ± 0.07
Lip + H	1.11 ± 0.23	0.12 ± 0.08 <sup>*</sup>	0.07 ± 0.03	0.53 ± 0.28 <sup>*</sup>

<sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs blank group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group

### 3.2 绞股蓝总苷颗粒对小鼠血清生化指标的影响

本研究采用高脂饮食诱导C57BL/6J小鼠产生高脂血症,药物干预四周后,检测C57BL/6J小鼠血清生化指标,结果如表5所示。与模型组比较,药物干预后均能明显降低小鼠血清TC含量( $P < 0.05$ ),其中联合组的药效优于绞股蓝总苷颗粒高剂量组及阳性药组。绞股蓝总苷颗粒低、中、高剂量组及联合组均有升高HDL-C、降低LDL-C水平的作用趋势,阳性药组较模型组能明显升高小鼠血清HDL-C含量( $P < 0.05$ )。

肝功能相关指标检测结果显示,持续喂养高脂

饲料导致模型组小鼠血清ALT、AST水平显著升高,诱发肝损伤。给予绞股蓝总苷颗粒干预后,与模型组相比,绞股蓝总苷颗粒低、中、高剂量组均能明显降低血清AST水平( $P < 0.05$ )。根据检测结果发现,绞股蓝总苷颗粒低剂量组及联合组较模型组ApoB含量有所降低,但无显著性差异;而阳性药组较模型组能明显减少小鼠ApoB的分泌( $P < 0.05$ )。以上结果提示绞股蓝总苷颗粒能够改善高脂血症小鼠血清TC指标,降低血清转氨酶含量,有效缓解肝损伤。

**Table 5** Serum indexes in C57BL/6J mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8-12$ )

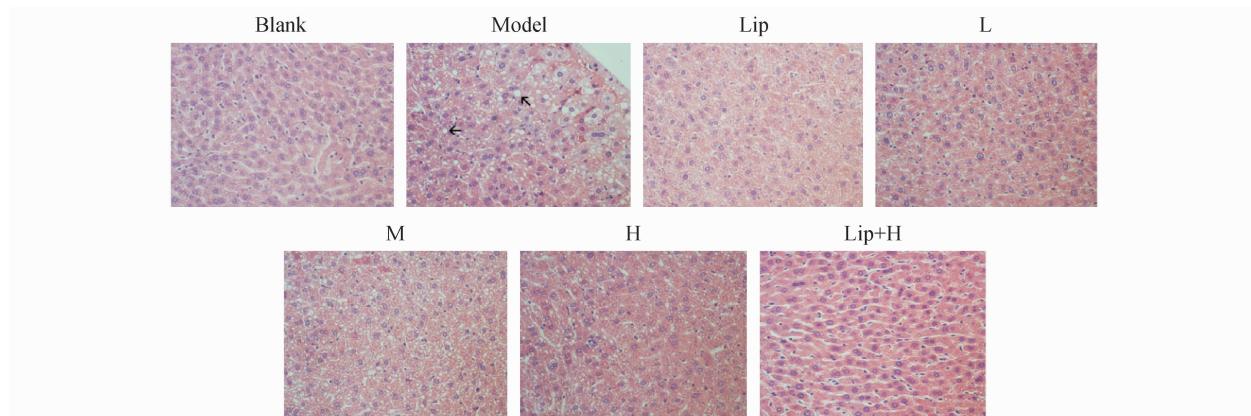
Group	TC/( mmol/L)	TG/( mmol/L)	HDL-L/( mmol/L)	LDL-L/( mmol/L)	AST/( U/L)	ALT/( U/L)	APOB/( mmol/L)
Blank	4.02 ± 0.57	1.50 ± 0.34	5.60 ± 0.68	0.38 ± 0.32	43.68 ± 9.07	15.27 ± 4.13	161.21 ± 24.35
Model	6.91 ± 1.09 **	1.45 ± 0.36	4.62 ± 0.87 *	1.33 ± 0.78 **	78.17 ± 18.08 **	23.78 ± 6.07 *	243.46 ± 23.48 **
Lip	5.20 ± 0.95 ##	1.51 ± 0.41	6.65 ± 0.99 ##	1.30 ± 0.19	55.53 ± 14.69 #	23.66 ± 5.77	109.00 ± 25.80 ##
L	4.86 ± 0.44 ##	1.47 ± 0.27	5.20 ± 0.48	1.39 ± 0.21	49.82 ± 14.73 ##	28.00 ± 3.75	228.39 ± 16.33
M	5.20 ± 0.60 ##	1.53 ± 0.54	5.20 ± 0.70	1.37 ± 0.22	40.79 ± 8.16 ##	25.58 ± 6.84	279.21 ± 25.50
H	5.88 ± 1.70	1.54 ± 0.24	5.31 ± 0.53	1.32 ± 0.22	42.29 ± 10.84 ##	23.97 ± 5.71	306.43 ± 20.79
Lip + H	4.68 ± 0.56 ##	1.14 ± 0.12 *	5.53 ± 0.97	1.16 ± 0.19	58.76 ± 8.99	22.81 ± 3.50	229.91 ± 26.91

\*  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  vs blank group; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs model group

### 3.3 肝脏 HE 染色

各组小鼠肝脏 HE 染色结果如图 1 所示。空白组小鼠肝脏小叶结构清晰, 肝细胞排列有序。高脂饮食诱导后, 模型组小鼠肝细胞排列紊乱, 出现空泡, 并伴有脂滴蓄积, 肝索结构不清晰。给予药物干预后, 绞股蓝总苷颗粒低、中、高剂量组较模型

组脂滴明显减少, 空泡消失; 联合组脂滴减少, 肝细胞排列较整齐, 肝索结构清晰, 肝细胞状态趋于正常肝细胞; 阳性药组表现出与联合组类似的药效。以上结果说明绞股蓝总苷颗粒对受损小鼠肝细胞有保护和促进修复作用。



**Figure 1** Effect of gypenosides granules on liver in C57BL/6J mice by HE staining ( $\times 200$ )

### 3.4 绞股蓝总苷颗粒对小鼠肝脏胆固醇代谢相关蛋白与基因表达的影响

为探究绞股蓝总苷颗粒降脂的作用机制, 考察小鼠肝脏胆固醇代谢关键因子蛋白、基因表达水平。如图 2 所示, 经高脂饮食诱导后, 模型组较空白组 LXR $\alpha$  蛋白量明显上升( $P < 0.05$ ), ABCA1 的蛋白表达量则恰恰相反( $P < 0.05$ )。给药干预后, 绞股蓝总苷颗粒低剂量组 LXR $\alpha$  蛋白表达量较模型组呈下降趋势, 但无显著性差异; ABCA1 的蛋白表达却显著上调( $P < 0.05$ )。

肝脏 TC 代谢相关基因表达如图 3 所示。相比空白组, 模型组 LXR $\alpha$  基因表达量明显上升, ABCA1、CYP7A1、SR-BI、LDLR 及 SREBP-2 的基因表达量明显下降( $P < 0.05$ )。给药干预后, LXR $\alpha$  基因表达量具有一定下降趋势; 绞股蓝总苷颗粒低剂量组 ABCA1、CYP7A1、SR-BI 的基因表达量显著

上调( $P < 0.05$ ), LDLR 及 SREBP-2 基因表达量呈增长趋势, 但与模型组相比无显著性差异。

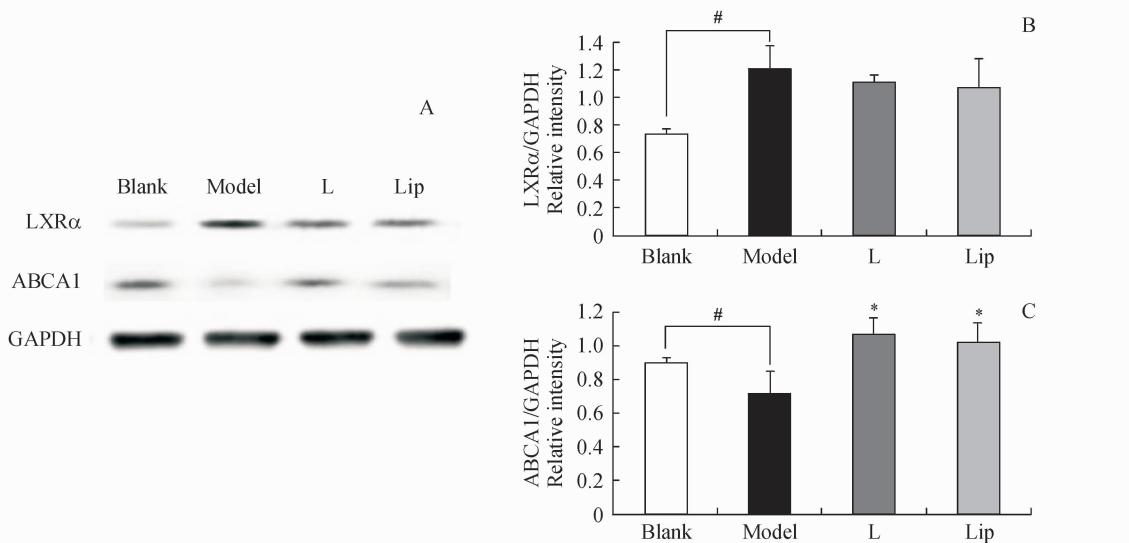
## 4 讨论

本实验采用高脂饮食成功诱导小鼠高脂血症模型, 模型小鼠血清胆固醇含量显著升高, 同时出现肝脏损伤症状。本研究发现绞股蓝总苷颗粒低、中剂量组均可以显著改善机体胆固醇水平, 联合组较阳性药组以及绞股蓝总苷颗粒高剂量组降脂效果更显著, 并且有效缓解肝脏损伤, 降低血清转氨酶含量。

脂质异位是指脂质在肝脏、肌肉、 $\beta$  细胞、心以及内皮细胞等非脂肪细胞的沉积。腹内脂肪与 HDL-C 呈负相关, 与 LDL-C 呈正相关, 过度积累的内脏脂肪组织可释放大量游离脂肪酸(FFA)进入血液循环, 促使胰腺、肝脏及骨骼肌等组织吸收过

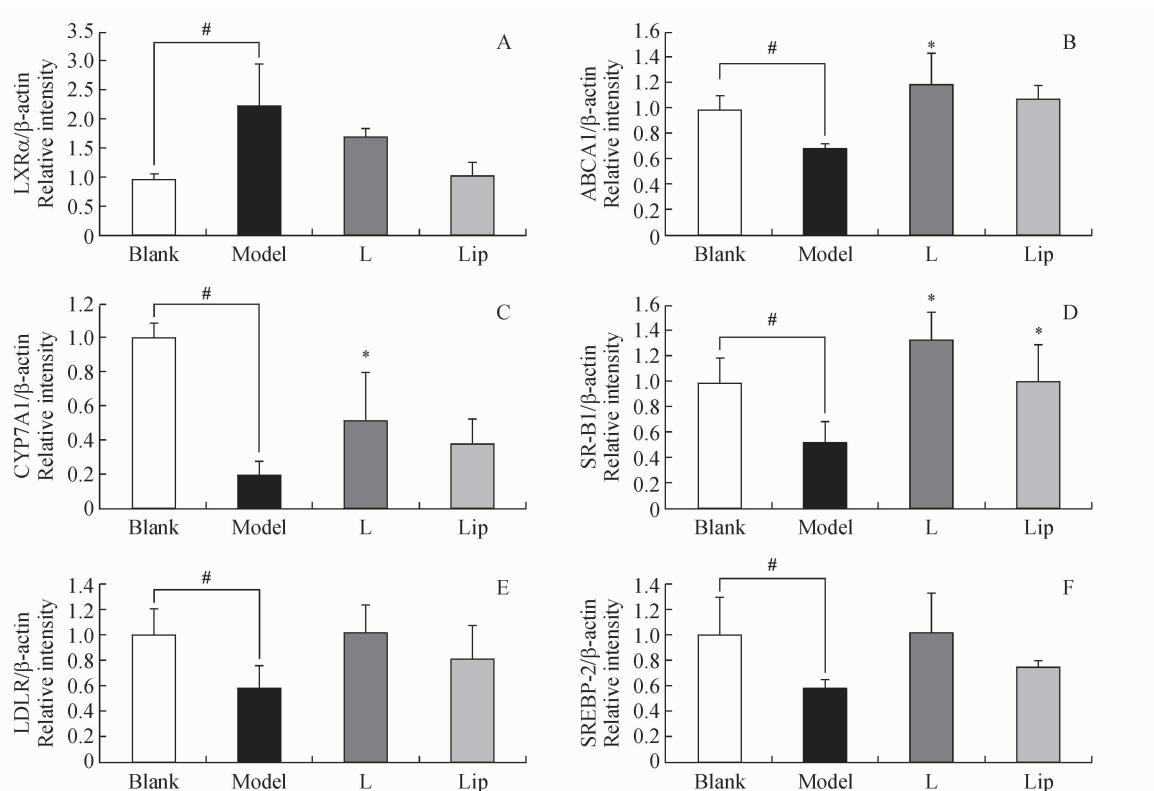
多的 FFA, 损害胰岛素依赖的代谢过程, 内脏脂肪还可分泌炎症因子, 影响体内其他代谢过程, 引发糖尿病等其他并发症<sup>[11]</sup>。他汀类在高剂量使用时, 也可能会增加病人患糖尿病的风险<sup>[12]</sup>。已经

有研究表明绞股蓝可以降低超重和胰岛素抵抗风险, 具有潜在的降糖效果<sup>[13–14]</sup>。本研究显示绞股蓝总皂颗粒可减少小鼠腹部脂肪蓄积量, 与他汀联用后可防止体重增加以及相关并发症的产生。



**Figure 2** Protein levels in C57BL/6J mice by Western blot analysis (A) and relative intensity of LXRx/GAPDH (B) and ABCA1/GAPDH (C) ( $\bar{x} \pm s$ , n=8)

#P<0.05 vs blank group; \*P<0.05 vs model group



**Figure 3** Hepatic mRNA expressions of LXRx/β-actin (A), ABCA1/β-actin (B), CYP7A1/β-actin (C), SR-BI/β-actin (D), LDLR/β-actin (E) and SREBP-2/β-actin (F) in C57BL/6J mice ( $\bar{x} \pm s$ , n=8)

#P<0.05 vs blank group; \*P<0.05 vs model group

有学者发现绞股蓝皂苷干预后对天冬氨酸 AST 转氨酶有特定的效果,优于阳性药罗格列酮、辛伐他汀和非诺贝特,并对胆汁酸通路产生影响,推断绞股蓝皂苷可能是通过促进肝脏胆汁酸的合成起到防治肝损伤的作用<sup>[15]</sup>。本研究结果显示,绞股蓝总苷颗粒还可减少血清中 AST 含量,修复小鼠受损的肝细胞,提示绞股蓝总苷颗粒可以减轻高脂诱导的肝脏损伤,具有潜在的护肝作用。因此推测绞股蓝总苷颗粒与他汀联用后,可显著逆转他汀导致的转氨酶升高,减少其不良反应发生率。

在胆固醇逆转运过程中,TC 经肝外组织和巨噬细胞流出胞外,经 HDL 摄取后,与细胞表面的 ABCA1 相结合,再在 LCAT 的作用下,HDL 游离胆固醇酯化后形成胆固醇酯,然后 SR-BI 将胆固醇酯重新转运至肝脏代谢为胆汁酸,排出体外<sup>[16-17]</sup>。激活 CYP7A1 能够调节胆汁酸的代谢与合成,减少 TC 在肝脏的堆积<sup>[18]</sup>。由此可见,ABCA1、CYP7A1 和 SR-BI 对调节 TC 代谢具有重要影响。本研究发现绞股蓝总苷颗粒不仅能够促进 ABCA1 的蛋白表达,还能上调 ABCA1、CYP7A1 和 SR-BI 的基因表达,因此,推测绞股蓝总苷颗粒能通过影响 ABCA1、CYP7A1 和 SR-BI 的活性参与肝脏 TC 代谢,从而降低机体的 TC 含量。此外,文献研究证实 LXRx 可通过调节 ABCA1、ABCG5/G8 及 CYP7A1 的活性来影响胆固醇逆转运<sup>[19]</sup>。研究发现经绞股蓝总苷颗粒干预后,LXRx 呈下降趋势,ABCA1 和 CYP7A1 表达量明显上调,绞股蓝总苷颗粒降 TC 的机制可能是独立调节 LXRx 及 ABCA1 等靶点。现有诸多报道如法尼酯受体(FXR)、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR $\gamma$ )等其他受体也能通过作用于 ABCA1、CYP7A1 或其他相关蛋白从而调节胆固醇逆向转运<sup>[20-21]</sup>。因此,绞股蓝总苷颗粒是如何调节 ABCA1、CYP7A1 等肝脏 TC 代谢相关蛋白的活性来维持体内 TC 的稳态还需进一步研究。本研究发现阳性药阿托伐他汀对 ABCA1、ABCG5/G8 及 CYP7A1 的影响趋势与绞股蓝总苷颗粒低剂量组类似,据报道阿托伐他汀通过抑制小鼠肝脏和肠道的 FXR 信号通路,诱导胆汁酸合成酶 CYP7A1<sup>[22]</sup>,与绞股蓝总苷颗粒联用后可协同发挥降脂效果。

本研究证实绞股蓝总苷颗粒对高脂饮食诱导的高脂血症小鼠有一定的治疗作用,与他汀联用后

效果更佳,并可改善他汀升高转氨酶的副作用,改善肝功能。后续将继续深入探索绞股蓝总苷颗粒与他汀联用的机制,明确最佳联用剂量,为绞股蓝总苷颗粒在临床上的应用提供理论依据。

## 参 考 文 献

- [1] Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al. 2016 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(39):2999–3058.
- [2] Balaz M, Becker AS, Balazova L, et al. Inhibition of mevalonate pathway prevents adipocyte Browning in mice and men by affecting protein prenylation [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(4):901–916.
- [3] Klose G, Beil FU, Dieplinger H, et al. New AHA and ACC guidelines on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk [J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2014, 126(5/6):169–175.
- [4] Vasudevan AR, Hamirani YS, Jones PH. Safety of statins: effects on muscle and the liver [J]. *Cleve Clin J Med*, 2005, 72(11):990–993, 996–1001.
- [5] Li Y, Wang X, Shen Z. Traditional Chinese medicine for lipid metabolism disorders [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(5):2038–2049.
- [6] Hasani-Ranjbar S, Nayebi N, Moradi L, et al. The efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of hyperlipidemia; a systematic review [J]. *Curr Pharm Des*, 2010, 16(26):2935–2947.
- [7] Razmovski-Naumovski V, Huang THW, Tran VH, et al. Chemistry and pharmacology of *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Phytomed Rev*, 2005, 4(2/3):197–219.
- [8] Peng L, Li YJ, C J, et al. Study on the total Saponins and polysaccharides content in *Gynostemma pentaphyllum* from different producing areas and different varieties [J]. *Aisa-Pacific Trad Med* (亚太传统医药), 2015, 22(11):21–24.
- [9] Wong WY, Lee MM, Chan BD, et al. *Gynostemma pentaphyllum* saponins attenuate inflammation *in vitro* and *in vivo* by inhibition of NF- $\kappa$ B and STAT3 signaling [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(50):87401–87414.
- [10] Gauhar R, Hwang SL, Jeong SS, et al. Heat-processed *Gynostemma pentaphyllum* extract improves obesity in ob/ob mice by activating AMP-activated protein kinase [J]. *Biotechnol Lett*, 2012, 34(9):1607–1616.
- [11] Itariu BK, Stulnig TM. Obesity, insulin resistance, and inflammation [M]// *Inflammation, Advancing Age and Nutrition*, 2014; 157–164.
- [12] Wang XT, Zhang M, Guo HF, et al. Effect and mechanism of atorvastatin on blood glucose of mild diabetic rats [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2012, 43(5):453–459.
- [13] Yeo J, Kang YJ, Jeon SM, et al. Potential hypoglycemic effect of an ethanol extract of *Gynostemma pentaphyllum* in C57BL/KsJ-

- db/Db mice [J]. *J Med Food*, 2008, 11(4): 709–716.
- [14] Liu J, Li YF, Yang PY, et al. Gypenosides reduced the risk of overweight and insulin resistance in C57BL/6J mice through modulating adipose thermogenesis and gut *Microbiota* [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(42): 9237–9246.
- [15] Lu YL, Du YM, Qin L, et al. Gypenosides altered hepatic bile acids homeostasis in mice treated with high fat diet [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 8098059.
- [16] Escolà-Gil JC, Rotllan N, Julve J, et al. In vivo macrophage-specific RCT and antioxidant and antiinflammatory HDL activity measurements: new tools for predicting HDL atheroprotection [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 206(2): 321–327.
- [17] Wang SH, Smith JD. ABCA1 and nascent HDL biogenesis [J]. *Biofactors*, 2014, 40(6): 547–554.
- [18] Zou B, Li CM, Chen JY, et al. High molecular weight persimmon tannin is a potent hypolipidemic in high-cholesterol diet fed rats [J]. *Food Res Int*, 2012, 48(2): 970–977.
- [19] Dúvalos A, Fernández-Hernando C. From evolution to revolution: miRNAs as pharmacological targets for modulating cholesterol efflux and reverse cholesterol transport [J]. *Pharmacol Res*, 2013, 75: 60–72.
- [20] Jiao R, Zhang ZS, Yu HJ, et al. Hypocholesterolemic activity of grape seed proanthocyanidin is mediated by enhancement of bile acid excretion and up-regulation of CYP7A1 [J]. *J Nutr Biochem*, 2010, 21(11): 1134–1139.
- [21] Tu Z, Moss-Pierce T, Ford P, et al. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract regulates glucose and lipid metabolism by activating AMPK and PPAR pathways in HepG2 cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(11): 2803–2810.
- [22] Fu ZD, Cui JY, Klaassen CD. Atorvastatin induces bile acid-synthetic enzyme Cyp7a1 by suppressing FXR signaling in both liver and intestine in mice [J]. *J Lipid Res*, 2014, 55(12): 2576–2586.

· 本刊讯 ·

## 《中国药科大学学报》编辑部 在“第二届全国报刊编校技能大赛”中获佳绩

2019年10月9日,江苏省新闻出版局、江苏省报业协会、江苏省期刊协会联合发文,通报表扬在第二届全国报刊编校技能大赛江苏赛区初赛中取得优异成绩的集体和个人。《中国药科大学学报》编辑部代表队荣获团体三等奖、1人获得个人三等奖。本次大赛有25家单位获团体奖、60名参赛选手获个人奖、6家单位获优秀组织奖。

《中国药科大学学报》编辑部代表队通过组织青年编辑参加技能大赛,锻炼了编辑人才队伍,提升了编校技能,在编辑部内部营造了高度重视出版质量、不断追求卓越的浓厚学习氛围,对外展示了《中国药科大学学报》编辑部求真、务实、进取的良好形象。

江苏赛区的初赛由省新闻出版局主办,省期刊协会、省报业协会承办。此次比赛共有94支代表队的282名采编、校对人员参加比赛。重点考察编校人员对习近平新时代中国特色社会主义思想、马克思主义新闻观、新闻出版法规、编校基础知识以及新媒体融合发展理念的理解掌握和应用情况。

(本刊编辑部)