

11 β -HSD1在非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏中的表达及大黄素的干预作用

孙红爽, 李鹏霖, 刘永双, 乜春城, 高玲娜 (哈励逊国际和平医院 药学部, 河北 衡水 053000)

摘要: **目的** 探讨11 β -羟基类固醇脱氢酶1 (11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, 11 β -HSD1) 在非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 大鼠肝脏中的表达及大黄素的干预作用。**方法** 将30只雄性Wistar大鼠随机分为对照组、模型组和治疗组, 每组10只。对照组给予普通饲料, 模型组和治疗组喂以自制高脂饲料, 从第9周开始治疗组给予大黄素干预治疗, 第14周末实验结束。计算各组大鼠肝指数, 检测血液和肝组织生物化学指标, 包括丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、总胆固醇 (total cholesterol, TG)、甘油三酯 (triglycerides, TC)、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)、游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 及血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α), 采用实时荧光定量聚合酶链式反应 (real time polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测肝组织11 β -HSD1 mRNA相对表达量, 采用Western blot检测肝组织11 β -HSD1蛋白相对表达量, 于光学显微镜下观察各组大鼠的肝组织病理。**结果** 对照组、模型组和治疗组肝指数分别为 (23.4 \pm 1.2) mg/g、(25.66 \pm 0.99) mg/g、(24.10 \pm 1.8) mg/g, 差异有统计学意义 ($F = 7.230$, $P = 0.003$)。与对照组比较, 模型组肝指数显著增高 ($t = 3.725$, $P < 0.001$); 与模型组比较, 治疗组肝指数显著下降 ($t = 2.523$, $P = 0.029$)。对照组、模型组和治疗组血液ALT [(42.60 \pm 8.78) U/L vs (70.00 \pm 11.60) U/L vs (48.90 \pm 12.25) U/L]、AST [(99.40 \pm 12.99) U/L vs (186.00 \pm 20.49) U/L vs (144.7 \pm 17.30) U/L]、TC [(1.53 \pm 0.17) mmol/L vs (2.11 \pm 0.15) mmol/L vs (1.66 \pm 0.21) mmol/L]、TG [(0.59 \pm 0.06) mmol/L vs (0.68 \pm 0.06) mmol/L vs (0.64 \pm 0.05) mmol/L]、HDL [(1.05 \pm 0.10) mmol/L vs (0.81 \pm 0.10) mmol/L vs (0.92 \pm 0.09) mmol/L]、FFA [(648 \pm 52) μ mol/L vs (1081 \pm 53) μ mol/L vs (764 \pm 72) μ mol/L] 及TNF- α [(0.288 \pm 0.068) μ g/L vs (0.669 \pm 0.051) μ g/L vs (0.488 \pm 0.054) μ g/L] 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.001), 与对照组相比, 模型组大鼠血液ALT、AST、TC、TG、FFA及TNF- α 水平均显著升高 (P 均 < 0.05), HDL显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 治疗组上述各项指标均有显著改善 (P 均 < 0.05)。对照组、模型组和治疗组大鼠肝脏TC [(1.44 \pm 0.12) mmol/g vs (2.10 \pm 0.24) mmol/g vs (1.63 \pm 0.24) mmol/g]、TG [(4.58 \pm 0.41) mmol/g vs (5.73 \pm 0.39) mmol/g vs (4.89 \pm 0.32) mmol/g]、FFA [(625 \pm 95) μ mol/g vs (1436 \pm 174) μ mol/g vs (803 \pm 152) μ mol/g] 及TNF- α [(0.506 \pm 0.104) μ g/g vs (1.124 \pm 0.104) μ g/g vs (0.855 \pm 0.098) μ g/g] 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.001)。与对照组相比, 模型组大鼠肝脏有明显脂质沉积, 表现为TC、TG、FFA水平显著升高 (P 均 < 0.001), 且肝组织TNF- α 水平也显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 治疗组以上各项指标均显著下降 (P 均 < 0.001)。对照组、模型组和治疗组大鼠肝组织11 β -HSD1 mRNA (0.052 \pm 0.006 vs 0.194 \pm 0.026 vs 0.104 \pm 0.020) 及蛋白 (0.112 \pm 0.026 vs 0.380 \pm 0.096 vs 0.195 \pm 0.038) 表达差异均有统计学意义 (P 均 < 0.001), 与对

照组比较, 模型组肝组织 11β -HSD1 mRNA及蛋白表达显著升高(P 均 < 0.001); 与模型组比较, 治疗组肝组织 11β -HSD1 mRNA及蛋白表达均显著降低(P 均 < 0.001)。肝组织病理显示对照组大鼠肝组织细胞结构完整, 肝小叶清晰; 模型组大鼠肝组织出现明显的肝脂肪变性及大量炎性细胞浸润; 与模型组比较, 治疗组大鼠肝组织变性和炎性细胞浸润明显减少。**结论** 大黄素可降低NAFLD大鼠肝指数, 改善肝功能, 降低血脂及肝脏脂质沉积, 减轻肝组织病理改变, 同时显著抑制肝组织 11β -HSD1 mRNA和蛋白表达量, 提示大黄素对NAFLD有保护作用, 其作用机制可能与抑制 11β -HSD1活性有关。

关键词: 11β -羟基类固醇脱氢酶1; 大黄素; 脂肪性肝病, 非酒精性; 大鼠

Expression of 11β -HSD1 in liver of rat with non-alcoholic fatty liver disease and the intervention effects of emodin

Sun Hongshuang, Li Penglin, Liu Yongshuang, Nie Chuncheng, Gao Lingna (Department of Pharmacy, Harrison International Peace Hospital, Hengshui 053000, Hebei Province, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of 11β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11β -HSD1) in rats with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the intervention effect of emodin. **Methods** Total of 30 male Wistar rats were randomly divided into control group, model group and treatment group, 10 cases in each group. Rats in control group were fed with normal diet, and rats in model and treatment group were fed with high-fat diet. The treatment group was given emodin from the 9th week, and the experiment was completed at the end of the 14th week. The hepatic index of rats was calculated, and biochemical indexes of blood and liver tissues were detected, including alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total cholesterol (TG), triglycerides (TC), high density lipoprotein (HDL), free fatty acid (FFA) and tumor necrosis factor α (TNF- α). The relative expression of 11β -HSD1 mRNA in liver tissue was detected by real time polymerase chain reaction (RT-PCR), and the relative expression of 11β -HSD1 protein was detected by Western blot. Liver histopathology was observed under a light microscope. **Results** The hepatic indexes of rats in control group, model group and treatment group were (23.4 ± 1.2) mg/g, (25.66 ± 0.99) mg/g and (24.10 ± 1.8) mg/g, respectively, the difference was statistically significant ($F = 7.230$, $P = 0.003$). Compared with control group, hepatic index of rats in model group increased significantly ($t = 3.725$, $P < 0.001$). Compared with model group, hepatic index of rats in the treatment group decreased significantly ($t = 2.523$, $P = 0.029$). The differences of serum ALT [(42.60 ± 8.78) U/L vs (70.00 ± 11.60) U/L vs (48.90 ± 12.25) U/L], AST [(99.40 ± 12.99) U/L vs (186.00 ± 20.49) U/L vs (144.7 ± 17.30) U/L], TC [(1.53 ± 0.17) mmol/L vs (2.11 ± 0.15) mmol/L vs (1.66 ± 0.21) mmol/L], TG [(0.59 ± 0.06) mmol/L vs (0.68 ± 0.06) mmol/L vs (0.64 ± 0.05) mmol/L], HDL [(1.05 ± 0.10) mmol/L vs (0.81 ± 0.10) mmol/L vs (0.92 ± 0.09) mmol/L], FFA [(648 ± 52) μ mol/L vs (1081 ± 53) μ mol/L vs (764 ± 72) μ mol/L] and TNF- α [(0.288 ± 0.068) μ g/L vs (0.669 ± 0.051) μ g/L vs (0.488 ± 0.054) μ g/L] of rats in control group, model group and treatment group were statistically significant (all $P < 0.001$). Compared with control group, the serum levels of ALT, AST, TC, TG, FFA and TNF- α of rats in model group increased significantly (all $P < 0.001$) and HDL decreased significantly ($P < 0.001$). Compared with model group, the above indexes in the treatment group were significantly improved (all $P < 0.05$). The differences of liver TC [(1.44 ± 0.12) mmol/g vs (2.10 ± 0.24) mmol/g vs (1.63 ± 0.24) mmol/g], TG [(4.58 ± 0.41) mmol/g vs (5.73 ± 0.39) mmol/g vs (4.89 ± 0.32) mmol/g], FFA [(625 ± 95) μ mol/g vs (1436 ± 174) μ mol/g vs (803 ± 152) μ mol/g] and TNF- α [(0.506 ± 0.104) μ g/g vs (1.124 ± 0.104) μ g/g vs (0.855 ± 0.098) μ g/g] of rats in control group, model group and treatment group were statistically significant (all $P < 0.001$).

Compared with control group, there was obvious lipid deposition in liver of rats in model group with increasing levels of TC, TG, FFA and TNF- α (all $P < 0.001$). Compared with model group, all the above indexes of rats in treatment group were significantly decreased (all $P < 0.001$). The differences of *11 β -HSD1* mRNA (0.052 ± 0.006 vs 0.194 ± 0.026 vs 0.104 ± 0.020) and protein (0.112 ± 0.026 vs 0.380 ± 0.096 vs 0.195 ± 0.038) in liver tissues of rats in control group, model group and treatment group were statistically significant (all $P < 0.001$). Compared with control group, the expression of *11 β -HSD1* mRNA and protein of rats in model group were significantly increased (all $P < 0.001$); compared with model group, the expression of *11 β -HSD1* mRNA and protein of rats in treatment group were significantly decreased (all $P < 0.001$). Pathological examination of liver tissue showed that the cell structure of liver tissue was intact and the hepatic lobule was clear in control group. Hepatic steatosis and inflammatory cell infiltration were observed in model group. Compared with model group, liver tissue degeneration and inflammatory cell infiltration were significantly reduced in treatment group. **Conclusions** Emodin can reduce hepatic index, improve liver function, reduce blood lipid and lipid deposition in liver, alleviate pathological changes of liver tissue, and significantly inhibit the expression of *11 β -HSD1* mRNA and protein in liver tissue of rats with NAFLD, suggesting that emodin has a protective effect on NAFLD, and its mechanism may be related to the inhibition of *11 β -HSD1* activity.

Key words: *11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1*; Emodin; Fatty liver disease, non-alcoholic; Rat

大黄素是中药材大黄的主要有效单体组分, 可从大黄、虎杖、决明子、何首乌和芦荟等中药中有效提取^[1], 已有研究证实大黄素能够有效改善胰岛素抵抗状态, 用于糖尿病的治疗^[2-4]。非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 的发病机制尚未完全明确, 但胰岛素抵抗在其疾病发展中的重要作用已被普遍认同^[5,6]。有研究表明, *11 β -羟基类固醇脱氢酶1* (*11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1*, *11 β -HSD1*) 表达升高与胰岛素抵抗密切相关, 且大黄素可显著改善胰岛素抵抗大鼠的糖、脂代谢水平及对胰岛素的敏感性, 抑制 *11 β -HSD1* 的表达^[7,8]。本研究通过高热量饲料喂养法建立NAFLD大鼠模型, 观察大黄素对NAFLD及肝组织*11 β -HSD1*表达的影响, 为NAFLD药物治疗和发病机制研究提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 实验动物 30只清洁级Wistar大鼠, 雄性, 体重 (200 ± 20) g, 购自河南实验动物中心, 实验动物生产许可证编号: SCXK (豫) 2017-0001, 实验动物使用许可证编号: SYXK (苏) 2013-0012; 适应性喂养1周后开始实验。本研究经哈励逊国际和平医院伦理委员会审核批准 (2018-3-15)。

1.2 试剂与仪器 大黄素 (郑州荔诺生物科技有限公司, 160724)、全自动生化分析仪 (日本日立公

司, 7600-020)、两步法RT-PCR试剂盒 (TaKaRa公司)、*11 β -HSD1*抗体 (Santa Cruz公司)、Mini-Protean 3电泳槽、半干式转膜槽、Power PacTM Basic电源 (美国Bio-Rad公司)、实时定量PCR仪 (美国MJ Research公司)。

1.3 动物分组与给药 所有大鼠单笼饲养, 恒温 (23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 、恒湿 (60 ± 5) %, 自由饮水取食。适应性喂养1周后, 将所有大鼠随机分为对照组、模型组和治疗组, 每组10只。对照组大鼠喂给普通饲料, 其余2组大鼠喂给自制高脂饲料 (配方: 22%猪油 + 8%糖 + 2%胆固醇 + 2%盐 + 66%普通鼠用饲料)。第9周开始, 治疗组以大黄素60 mg/(kg·d) (用0.5%羧甲基纤维素钠溶液提前配制) 灌胃, 对照组和模型组以相同体积的0.5%羧甲基纤维素钠溶液灌胃。第14周末进行相关指标检测。

1.4 实验指标检测

1.4.1 肝指数测定 大鼠禁食12 h, 称重, 腹腔注射20%乌拉坦 (0.5 ml/100 g), 麻醉。颈动脉插管取血, 血样 $1370 \times \text{g}$ 离心10 min, 分离血清, 于 -20°C 保存待测。打开腹腔取肝脏, 在 4°C 生理盐水中反复冲洗, 吸干表面水分后称重。计算肝指数 (hepatic index, HI): $\text{HI (mg/g)} = \frac{\text{肝脏质量 (g)}}{\text{体质量 (g)}} \times 1000$ 。

1.4.2 血液指标测定 采用全自动生化分析仪测定丙

氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、总胆固醇 (total cholesterol, TG)、甘油三酯 (triglycerides, TC)、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 及游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA)。采用DFM-96型16管放射 γ 免疫计数器检测血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)。

1.4.3 肝组织生物化学指标测定 称取新鲜肝组织200 mg, 充分研磨, 制成浓度为10%的组织匀浆, $1370 \times g$ 离心15 min, 取上清液, 检测肝组织中TC、TG、FFA及TNF- α 含量, 检测方法同血液指标测定。

1.4.4 肝组织11 β -HSD1基因表达 采用实时荧光定量聚合酶链式反应 (real time polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测大鼠肝组织11 β -HSD1基因的表达。取新鲜肝组织100 mg, 于磷酸盐缓冲液中反复漂洗, 除去淤血, 用于11 β -HSD1 mRNA表达量的测定。11 β -HSD1上游引物: 5'-GCAGAGCGATTTGTTGTT-3', 下游引物 5'-TGTCTATGAAGCCGAGGA-3'; β -actin上游引物: 5'-CATCACCATGGCAATGAGCGG-3', 下游引物: 5'-TGCGGTCCACGATGGAGGGGCC-3'。PCR反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s, 然后94 $^{\circ}\text{C}$ 变性4 min, 48 $^{\circ}\text{C}$ 退火1.5 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸2 min, 30个循环后, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。产物于2%琼脂糖凝胶电泳, 运用全自动凝胶成像分析系统进行灰度扫描, 相对灰度 = $\frac{\text{各组泳道灰度}}{\text{对应泳道内参灰度}}$ 。

1.4.5 肝组织11 β -HSD1蛋白表达 取大鼠肝组织匀浆, 提取组织蛋白进行Western blot检测。14.7%分离胶、5%浓缩胶, 60 V电泳, 转膜2 h, 室温封闭2 h, 用兔抗小鼠11 β -HSD1多克隆抗体为一抗 (1:200稀释), 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 用羊抗兔IgG-HRP抗体为二抗 (1:800稀释), 室温作用2 h, ECL检测。运用Bandscan分析软件测量各组总灰度值, 进行定量分析, 并用自身 β -actin灰度值校正。

1.4.6 肝组织病理学检查 将新鲜肝组织用磷酸盐缓冲液反复冲洗, 固定, 脱水, 切片, HE染色, 光学显微镜下观察。从脂肪变性、肝组织纤维化、肝小叶炎症、汇管区炎症、和肝细胞气球样变5个方面观察肝组织病变程度^[9]。

1.5 统计学处理 采用SPSS 16.0软件进行统计学分析。肝指数、各项生物化学指标、11 β -HSD1 mRNA和蛋白相对表达量均为计量资料, 符合正态

分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 多重比较采用LSD- t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝指数 对照组、模型组和治疗组肝指数分别为 (23.4 ± 1.2) mg/g、(25.66 ± 0.99) mg/g、(24.10 ± 1.8) mg/g, 差异有统计学意义 ($F = 7.230$, $P = 0.003$)。与对照组比较, 模型组肝指数显著增大 ($t = 3.725$, $P < 0.001$), 治疗组差异无统计学意义 ($t = 1.078$, $P = 0.295$); 与模型组比较, 治疗组肝指数显著下降 ($t = 2.523$, $P = 0.029$)。

2.2 血液生物化学指标 对照组、模型组和治疗组血液ALT、AST、TC、TG、HDL、FFA及TNF- α 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.001)。与对照组相比, 模型组大鼠血液ALT、AST、TC、TG、FFA及TNF- α 水平均显著升高 (P 均 < 0.05), HDL显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 治疗组上述各项指标均有显著改善 (P 均 < 0.05), 见表1。

2.3 肝脏生物化学指标 对照组、模型组和治疗组大鼠肝脏TC、TG、FFA及TNF- α 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.001)。与对照组相比, 模型组大鼠肝脏有明显的脂质沉积, 表现为TC、TG、FFA水平显著升高 (P 均 < 0.001), 且肝组织TNF- α 水平也显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 治疗组以上各项指标均显著下降 (P 均 < 0.001), 见表2。

2.4 肝组织11 β -HSD1 mRNA及蛋白表达 对照组、模型组和治疗组大鼠肝组织11 β -HSD1 mRNA及蛋白表达差异均有统计学意义 (P 均 < 0.001)。与对照组比较, 模型组肝组织11 β -HSD1 mRNA及蛋白表达显著升高 (P 均 < 0.001); 与模型组比较, 治疗组肝组织11 β -HSD1 mRNA及蛋白表达均显著降低 (P 均 < 0.001), 见图2、图3。

2.5 肝组织病理 对照组大鼠肝细胞结构完整, 肝小叶轮廓清晰, 所有动物均未显示脂肪变性 & 炎症反应; 模型组10只大鼠均存在不同程度的脂肪变性,

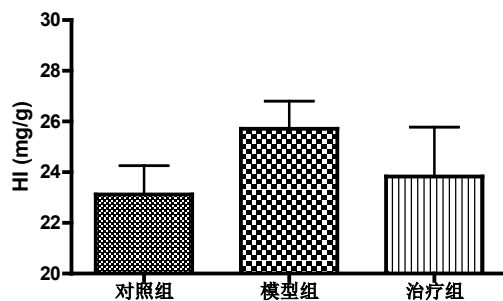


图1 各组大鼠肝指数

9只存在汇管区炎症，9只表现出轻度或中度的肝细胞气球样变，5只出现肝纤维化；治疗组5只存在轻度脂肪变性，4只出现汇管区炎症，4只存在轻度的肝细胞气球样变。典型肝组织切片见图4。

表1 对照组、模型组和治疗组大鼠血液生物化学指标 ($\bar{x} \pm s$)

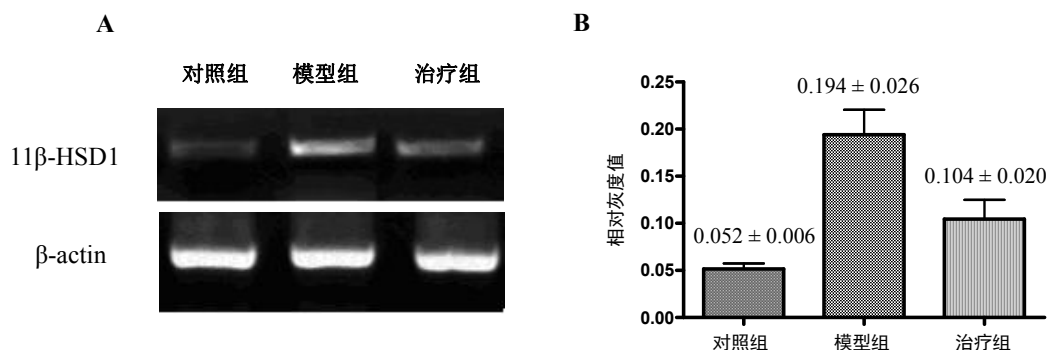
组别	ALT (U/L)	AST (U/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL (mmol/L)	FFA ($\mu\text{mol/L}$)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)
对照组	42.60 \pm 8.78	99.40 \pm 12.99	1.53 \pm 0.17	0.59 \pm 0.06	1.05 \pm 0.10	648 \pm 52	0.288 \pm 0.068
模型组	70.00 \pm 11.60	186.00 \pm 20.49	2.11 \pm 0.15	0.68 \pm 0.06	0.81 \pm 0.10	1081 \pm 53	0.669 \pm 0.051
治疗组	48.90 \pm 12.25	144.7 \pm 17.30	1.66 \pm 0.21	0.64 \pm 0.05	0.92 \pm 0.09	764 \pm 72	0.488 \pm 0.054
F 值	17.081	63.398	29.419	6.193	15.211	142.930	106.460
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.006	< 0.001	< 0.001	< 0.001
t_1 值	5.58	11.256	7.286	3.492	5.514	16.330	14.125
P_1 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.015	< 0.001	< 0.001	< 0.001
t_2 值	1.283	5.888	1.565	1.365	2.876	4.392	7.263
P_2 值	0.244	< 0.001	0.257	0.250	0.003	< 0.001	< 0.001
t_3 值	4.297	5.368	5.72	2.127	2.638	11.958	7.643
P_3 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.037	0.049	< 0.001	< 0.001

注: t_1 、 P_1 为模型组与对照组相比, t_2 、 P_2 为治疗组与对照组相比, t_3 、 P_3 为治疗组与模型组相比。

表2 对照组、模型组和治疗组大鼠肝脏生物化学指标 ($\bar{x} \pm s$)

肝组织指标	TC (mmol/g)	TG (mmol/g)	FFA ($\mu\text{mol/g}$)	TNF- α ($\mu\text{g/g}$)
对照组	1.44 \pm 0.12	4.58 \pm 0.41	625 \pm 95	0.506 \pm 0.104
模型组	2.10 \pm 0.24	5.73 \pm 0.39	1436 \pm 174	1.124 \pm 0.104
治疗组	1.63 \pm 0.24	4.89 \pm 0.32	803 \pm 152	0.855 \pm 0.098
F 值	27.266	25.401	86.922	92.941
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
t_1 值	7.168	6.892	12.544	13.327
P_1 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
t_2 值	2.048	1.872	2.756	7.755
P_2 值	0.022	0.163	0.004	< 0.001
t_3 值	5.12	5.02	9.788	5.984
P_3 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: t_1 、 P_1 为模型组与对照组相比, t_2 、 P_2 为治疗组与对照组相比, t_3 、 P_3 为治疗组与模型组相比。

图2 对照组、模型组和治疗组大鼠肝组织 11β -HSD1 mRNA 表达

注: A 为 11β -HSD1 基因的琼脂糖凝胶电泳图; B 为 11β -HSD1 mRNA 的相对灰度值, 3 组间相比 $F = 134.828$, $P < 0.001$, 与对照相比, 模型组 $t = 16.238$, $P < 0.001$, 治疗组 $t = 7.861$, $P < 0.001$, 与模型组相比, 治疗组 $t = 10.203$, $P < 0.001$ 。

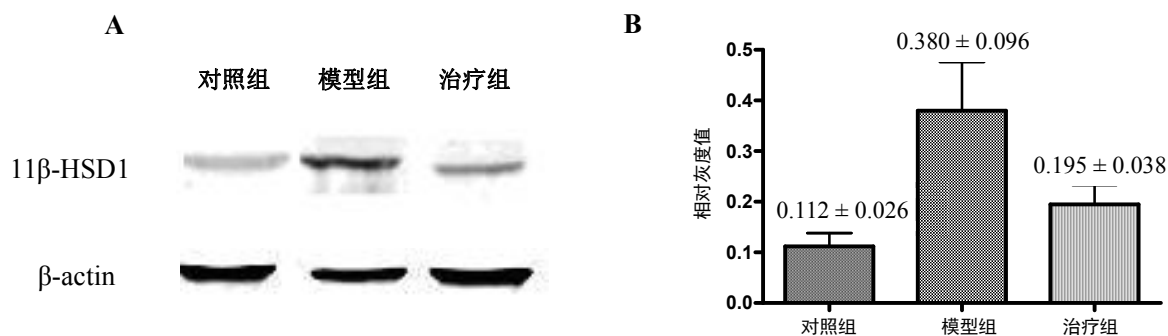


图3 对照组、模型组和治疗组大鼠肝组织 11β-HSD1 蛋白表达

注: A 为 11β-HSD1 蛋白的 Western blot 图, B 为 11β-HSD1 蛋白的相对灰度值, 3 组间相比 $F = 49.576$, $P < 0.001$, 与对照相比, 模型组 $t = 9.724$, $P < 0.001$, 治疗组 $t = 5.639$, $P < 0.001$, 与模型组相比, 治疗组 $t = 6.720$, $P < 0.001$ 。

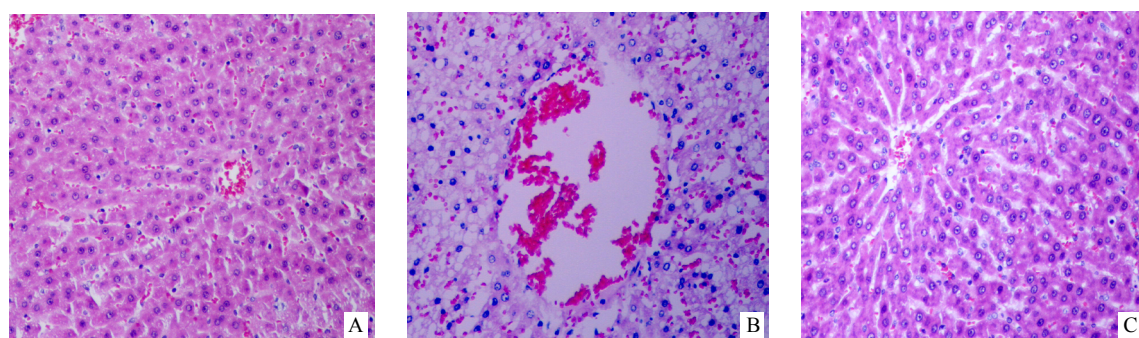


图4 对照组、模型组和治疗组大鼠肝组织病理 (HE 染色, ×200)

注: A 为对照组, 肝组织细胞结构完整, 肝小叶清晰; B 为模型组, 肝组织出现明显的肝脂肪变性及大量炎性细胞浸润; C 为治疗组, 与模型组比较, 肝组织变性和炎性细胞浸润明显减少。

3 讨论

NAFLD是代谢综合征疾病谱中的一种重要疾病, 其发病机制尚未完全阐明, 但现已证实其发病过程与胰岛素抵抗密切相关^[10]。目前尚无针对NAFLD的特效治疗药物, 多采用改善饮食结构^[11]、运动^[12,13]等行为方式改变结合降脂药物、胰岛素增敏剂^[14]、抗氧化剂^[15]及保肝药物^[16]等对症治疗^[17,18]。11β-HSD1是一种低亲和力、NADPH依赖的微粒体酶, 在体内可催化无活性的17-羟-11脱氢皮质酮转化为有活性的皮质醇, 从而调节体内糖皮质激素水平, 发挥生理效应^[19]。目前已有研究证实11β-HSD1与代谢综合征^[20]、肥胖^[21]、胰岛素抵抗^[22]及2型糖尿病^[23]密切相关, 11β-HSD1基因敲除可改善胰岛素抵抗、肥胖、血脂异常等^[24], 11β-HSD1抑制剂可有类似效果^[25,26]。目前发现的天然11β-HSD1抑制剂主要包括胆汁酸、孕激素的代谢产物、甘珀酸钠、大黄素^[27]、姜黄素^[28]、苦瓜提取物^[29]和越南割舌树提取物cochinchinoid K等。另外, 许多研究者对已知11β-HSD1抑制剂的结构进行改造, 人工合成了许多11β-HSD1抑制剂, 如BVT2733、INCB013739、

MK0916、PF-915275等^[30]。近年来, 11β-HSD1已经成为创新药物研究的一个新热点。

本研究表明长期高热量饲料喂养可成功建立大鼠NAFLD模型, 表现为肝指数增加、肝功能受损、血脂增高、肝脏脂质沉积、炎症状态以及肝组织形态学改变等。大黄素治疗对高热量饲料引起的大鼠NAFLD有显著改善作用, 可降低肝指数, 改善肝功能, 降低血脂及肝脏脂质沉积, 减少炎症因子的释放。肝组织切片观察结果也显示大黄素可明显改善肝脏脂肪变性、肝细胞气球样变、汇管区炎症、纤维化等NAFLD病理改变。同时, 大黄素可抑制肝组织内11β-HSD1基因和蛋白表达量。本研究提示大黄素对高热量饲料所致大鼠NAFLD的治疗作用可能与其抑制11β-HSD1有关, 大黄素作为一种天然11β-HSD1抑制剂, 通过抑制体内11β-HSD1活性, 改善胰岛素抵抗状态, 进而发挥对NAFLD的治疗作用。

参考文献

[1] 金丽霞, 金丽军, 栾仲秋, 等. 大黄的化学成分和药理研究进展[J].

- 中医药信息,2020,37(1):121-126.
- [2] 胡江, 段淑芳, 缪菁, 等. 大黄酸对糖尿病大鼠合并非酒精性脂肪性肝病的保护作用研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(5): 521-525.
 - [3] 李彩, 魏洁, 甄永占, 等. 赖氨大黄酸对KK/HIJ糖尿病小鼠胰岛素抵抗的改善作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2017, 43(6): 1074-1079.
 - [4] 赵滋苗, 蔡宛如, 陆军, 等. 大黄素对脓毒症大鼠血糖和胰岛素抵抗的影响[J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(9): 1115-1118.
 - [5] 谢晶, 杨森, 邢英. 利拉鲁肽对2型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病患者的糖脂代谢及胰岛素抵抗的影响[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2021, 13(4): 46-53.
 - [6] 刘思伽, 陈潇凡, 胡必成, 等. 非酒精性脂肪性肝病的发病机制及治疗研究进展[J]. 湖北中医药大学学报, 2019, 21(2): 126-129.
 - [7] 孙红爽, 乜春城, 朱小丽, 等. 11 β -HSD1在糖皮质激素联合高脂喂养大鼠胰岛素抵抗中的作用[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2016, 36(1): 14-19.
 - [8] 孙红爽, 乜春城, 朱小丽, 等. 大黄素对胰岛素抵抗大鼠脂肪组织 11 β -羟基类固醇脱氢酶1表达的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2016, 43(3): 427-430.
 - [9] KLEINER D E, BRUNT E M, VAN NATTA M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2005, 41(6): 1313-1321.
 - [10] 刘晓春, 吴佳健, 张微, 等. 柴胡皂苷A改善胰岛素抵抗对高脂诱导非酒精性脂肪肝小鼠的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(7): 772-774.
 - [11] 张玉亭, 黄一沁, 陈洁, 等. 低脂与低碳水化合物饮食治疗非酒精性脂肪肝的meta分析[J]. 肝脏, 2019, 24(10): 1119-1124, 1189.
 - [12] 姜涛, 刘敏娟, 闫冬. 高强度间歇训练对膳食诱导大鼠非酒精性脂肪肝形成的改善作用[J]. 新疆医科大学学报, 2021, 44(1): 44-48.
 - [13] 吴苏豫, 李江雁, 赵建林, 等. 有氧间歇训练结合利拉鲁肽对老年2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者肝脏脂肪沉积及抗氧化能力的影响[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(3): 488-490.
 - [14] 蔡辉耀, 杨鑫娜, 陈丽君, 等. 利拉鲁肽对2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝模型大鼠的肝保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(22): 3739-3742.
 - [15] 孙红爽, 乜春城, 李鹏霖, 等. α -硫辛酸对高热量饲料诱导的大鼠非酒精性脂肪肝及氧化应激的影响[J]. 中国老年学, 2020, 40(16): 3526-3529.
 - [16] 高改娅, 薛敬东. 疏肝健脾法治疗非酒精性脂肪肝的meta分析[J]. 海南医学院学报, 2020, 26(17): 1307-1314, 1322.
 - [17] 谢旭, 谭泳梅, 麦明杰, 等. 健脾利湿祛瘀方联合多烯磷脂酰胆碱治疗非酒精性脂肪肝临床研究[J]. 中国药业, 2020, 29(16): 73-76.
 - [18] 刘荣芝, 刘芝修, 刘倩, 等. 应用健康管理理论干预非酒精性脂肪肝患者的疗效观察[J]. 中国临床保健杂志, 2022, 25(1): 78-81.
 - [19] 孙红爽, 乜春城, 马红芳, 等. 11 β -羟基类固醇脱氢酶1与胰岛素抵抗及其抑制剂的研究进展[J]. 中国医师杂志, 2015, 17(8): 1275-1277.
 - [20] 吴国琼, 林梅, 张雨, 等. 11 β -羟基类固醇脱氢酶1型、促酰化蛋白在肥胖大鼠伴高脂血症形成中的机制[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(18): 4435-4437.
 - [21] 周明神, 刘莉. 11 β -羟基类固醇脱氢酶1与肥胖关系的研究进展[J]. 山东医药, 2013, 53(25): 95-97.
 - [22] 徐杰, 李国平, 唐蔚青, 等. I型11 β 羟基类固醇脱氢酶在肿瘤坏死因子- α 诱导的胰岛素抵抗中的作用[J]. 中华老年医学杂志, 2016, 35(5): 537-542.
 - [23] 张晶晶, 蔡金艳, 郭姣. 11 β -羟基类固醇脱氢酶1在2型糖尿病中的研究进展[J]. 食品与药品, 2017, 19(2): 142-147.
 - [24] MORTON N M, HOLMES M C, FIEVET C, et al. Improved lipid and lipoprotein profile, hepatic insulin sensitivity, and glucose tolerance in 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 null mice[J]. J Biol Chem, 2001, 276(44): 41293-41300.
 - [25] 吴国琼, 林梅, 郭菲菲, 等. 11 β -羟基类固醇脱氢酶1型抑制剂对高脂血症大鼠肝脏、脂肪和骨骼肌代谢基因的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(22): 5527-5529.
 - [26] 邹显彤, 纪立农. 11 β -羟基类固醇脱氢酶1型在代谢综合征中的作用[J]. 中国糖尿病杂志, 2015, 23(4): 378-380.
 - [27] WANG Y J, HUANG S L, FENG Y, et al. Emodin, an 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor, regulates adipocyte function in vitro and exerts anti-diabetic effect in ob/ob mice[J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(9): 1195-1203.
 - [28] HU G X, LIN H, LIAN Q Q, et al. Curcumin as a potent and selective inhibitor of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1: improving lipid profiles in high-fat-diet-treated rats[J]. Plos One, 2012, 8(3): e49976.
 - [29] BLUM A, LOERZ C, MARTIN H J, et al. Momordica charantia, extract, a herbal remedy for type 2 diabetes, contains a specific 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor[J]. J Steroid Biochem, 2012, 128(1-2): 51-55.
 - [30] 向青, 许文, 黄鸣清, 等. 11 β -羟基类固醇脱氢酶1及其抑制剂在代谢综合征中的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2014, 23(18): 2169-2173.

收稿日期: 2021-03-19

孙红爽, 李鹏霖, 刘永双, 等. 11 β -HSD1在非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏中的表达及大黄素的干预作用[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2022, 14(2): 11-17.