

· 研究报告 ·

红景天苷对非酒精性脂肪性肝炎的降脂保肝作用研究

陈少东, 周海虹, 赵正晓, 柳进, 张玉梅, 李国辉

(厦门大学医学院中医系, 厦门 361005)

摘要: 目的: 探讨中药红景天的主要成分红景天苷对高脂饮食诱导的金黄地鼠非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的干预作用。方法: 18只雄性金黄地鼠随机分成正常组、模型组和红景天苷组, 除正常组外, 其余两组均给予高脂饮食喂养6周以复制NASH模型; 造模第3周起, 红景天苷组给予红景天苷药液灌胃4周。6周后处死地鼠, 收集标本, 检测肝组织甘油三酯(TG)含量, 血清天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性, 对肝组织进行HE染色。结果: 红景天苷能明显降低肝组织TG含量及血清AST活性, 改善肝组织脂肪变性的病理状态。结论: 红景天苷具有显著的抗NASH病理损伤的药理效应。

关键词: 红景天苷; 非酒精性脂肪性肝炎; 降脂保肝; 金黄地鼠

基金资助: 国家自然科学基金(No.81274155), 厦门市重大科技计划项目(No.3502Z20100006), 横向课题(No.XDHT2011366A)

Jiangzhi and Hepatoprotective effect of salidroside on nonalcoholic fatty liver disease

CHEN Shao-dong, ZHOU Hai-hong, ZHAO Zheng-xiao, LIU Jin, ZHANG Yu-mei, LI Guo-hui

(Department of Traditional Chinese Medicine, Medical College of Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Objective: To explore the intervening effect of the main components of the rhodiola on the nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) for male golden hamsters induced by high-fat diets. Methods: Total 18 male golden hamsters were divided into control group, model group and salidroside group randomly. Male golden hamsters in the model group and salidroside group were fed with high fat diet for 6 weeks to reproduce NAFLD model. After the second week of feeding, male golden hamsters in the salidroside group were given a gavage of salidroside. All male golden hamsters were put to death at the 6 weeks and samples were collected. Hepatic tissue TG contents were detected. Serum AST activities were determined. Hepatic tissues were detected by HE staining. Results: Salidroside decreased hepatic tissue TG contents, serum AST activities and reduced the fatty degeneration in hepatocytes significantly. Conclusion: Salidroside has conspicuous pharmacological effect on the nonalcoholic fatty liver disease in male golden hamsters.

Key words: Salidroside; Nonalcoholic fatty liver disease; Jiangzhi and Hepatoprotective; Golden hamster

Fund assistance: National Natural Science Foundation of China (No.81274155), Xiamen Science and Technology Key Program (No.3502Z20100006), Enterprises Funded Project (No.XDHT2011366A)

随着现代人生活节奏的加快, 高脂肪、高热量的膳食结构及多坐少动的生活方式, 使得非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)患病率呈逐年上升趋势, 已成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病^[1]。因此, 加强NASH防治研究具有十分重要的意义。红景天是景天科多年生草本或灌木植物, 属于益气活血类中药, 具有抑制血糖升高^[2]及抗过氧化作用^[3], 作为红景天的主要有效成分红景天苷是否具有抗NASH的药理效应, 鲜见报道。基于此, 文章采用高脂饲料诱导金黄地鼠非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)模型, 观察红

景天苷对金黄地鼠肝组织甘油三酯(triglyceride, TG)含量、血清天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate amino transferase, AST)活性及肝组织病理变化的影响, 以期明确其药理效应, 为红景天的有效开发利用提供依据。

材料

1. 动物 清洁级金黄地鼠18只, 雄性, 体质量(100±10)g。购自中国科学院上海实验动物中心, 动物许可证号: SCXK(沪)2007-0011。于厦门大学医学院实验动物中心适应性饲养1周后进行实验。

通讯作者: 陈少东, 福建省厦门市思明区厦门大学医学院中医系, 邮编: 361005, 电话(传真): 0592-2183069

E-mail: adong@xmu.edu.cn

2. 药物制备 红景天苷(批号: SZY111007), 购自南京泽朗医药科技有限公司, 用时以蒸馏水配制成浓度为1mg/100mL的药液。

3. 高脂饲料 配方: 83.25%基础饲料、10.00%猪油、1.50%胆固醇、0.20%脱氧胆酸钠、5.00%糖、0.05%丙硫氧嘧啶, 购自苏州双狮动物饲料有限公司。

4. 试剂 TG试剂盒(批号: 20111029)、AST试剂盒(批号: 20111028), 均购自南京建成生物工程研究所。

5. 仪器 1-15K型微量冷冻离心机、2-16K冷冻离心机(美国Sigma公司), ULT1386-3-V39超低温冰箱(-80℃)(美国Thermo Scientific Revco公司), M5多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司), AL104电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

方法

1. 分组与用药 自造模之日起, 按计算机随机数字表, 将金黄地鼠分为正常组、模型组和红景天苷组, 各6只, 模型组和红景天苷组给予高脂饲料造模, 正常组给予正常饲料, 实验周期为6周。第3周起, 红景天苷组按1mL/100g鼠重灌服红景天苷药液, 正常组、模型组给予相应量的饮用水灌胃, 1次/d, 连续4周。

2. 检测项目与方法

2.1 样本获取 实验第6周末(即灌胃给药4周后), 称取动物体重, 用10%水合氯醛按0.36mL/100g进行腹腔注射麻醉, 心脏采血, 离心后吸取血清, -80℃保存。取出肝脏, 在同一肝叶和位置切取一块组织用于制备冰冻切片。另取200mg湿肝, 加入乙醇-丙酮(1:1)3mL, 匀浆3 000r/min离心, 10s×4次, 放置4℃冰箱过夜。翌日4℃离心(3 000r/min, 20min)后, 取10μL上清液, 用于TG含量测定。

2.2 金黄地鼠一般情况观察 造模过程中观察各组金黄地鼠体重、毛色、精神状态、肝重等。

2.3 血清AST活性检测 按AST生化试剂盒说明书检测。

2.4 肝组织病理变化 HE染色, 采用光镜观察。

3. 统计学方法 所有数据均使用SPSS 12.0软件包进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。组间比较采用单因素方差分析Q检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 一般观察 见表1, 图1。随着造模时间延长, 大鼠体重呈增长趋势, 其中正常组增长不显著, 而模型组与红景天苷组体重增长明显, 均较正常组显著升高($P < 0.01$); 红景天苷组大鼠体重虽与模型组比较无统计学差异, 但较模型组呈降低趋势。模型组地鼠的肝脏重量较正常组明显增加($P < 0.01$), 红景天苷组则较模型组有降低趋势, 但无统计学差异。

肉眼观察正常组金黄地鼠肝脏无异常, 模型组金黄地鼠肝脏体积增大, 颜色浅黄, 质地变软, 包膜紧张, 边缘圆钝, 切面油腻。红景天苷组肝脏体积较大, 深黄色, 质地中等, 边缘稍钝, 切面稍油腻。

表1 各组金黄地鼠体重、肝重比较($\bar{x} \pm s, n=6, g$)

组别	体质量	肝重
正常组	121.50±21.61	4.59±1.01
模型组	129.00±11.54**	7.54±1.51**
红景天苷组	128.50±11.27**	7.29±0.80**

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$ 。

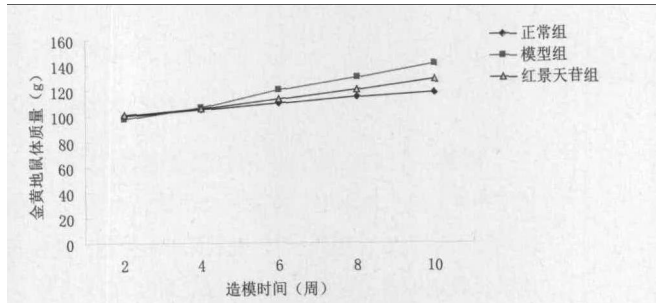


图1 各组金黄地鼠体重变化

2. 各组金黄地鼠肝组织TG含量的变化 见表2。较之正常组肝组织TG含量(0.7 ± 0.1) mg/g, 模型组TG含量升高为(1.5 ± 0.3) mg/g, 两者比较具有显著的统计学差异($P < 0.01$); 红景天苷组金黄地鼠的肝组织TG含量治疗后下降为(0.8 ± 0.2) mg/g, 与模型组比较, 差异显著($P < 0.05$)。

表2 各组金黄地鼠肝组织TG含量、血清AST活性的变化($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	TG (mg/g)	AST (U/L)
正常组	0.7±0.1	23.5±10.8
模型组	1.5±0.3**	91.8±26.0**
红景天苷组	0.8±0.2 ^Δ	58.3±15.9 ^Δ

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ^Δ $P < 0.05$ 。

3. 各组金黄地鼠血清AST活性的变化 见表2。较之正常组AST活性(23.5 ± 10.8) U/L, 模型组金黄地鼠血清AST活性上升($P < 0.01$), 而红景天苷组金黄地鼠血清AST活性则下降为(58.3 ± 15.9) U/L, 较之模型组显著降低($P < 0.05$)。

4. 各组金黄地鼠肝组织HE染色的病理变化 见图2。依据非酒精性脂肪性肝病诊疗指南^[4], 正常组金黄地鼠肝细胞索排列正常, 肝细胞形态正常, 核圆、大、居中, 胞浆内无脂肪滴蓄积, 小叶内无炎症细胞浸润。模型组金黄地鼠肝脏脂肪变性明显, 肝细胞肿大变圆, 胞浆疏松, 内含大的脂肪滴, 部分细胞可见细胞核挤向胞膜, 并可见炎症细胞浸润。红景天苷组金黄地鼠脂肪变性及炎症细胞浸润均较模型组明显减轻。

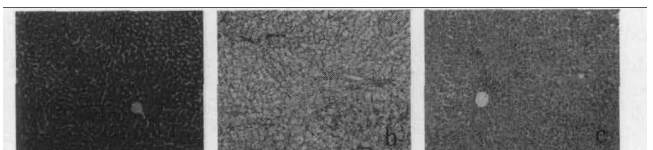


图2 各组金黄地鼠肝组织HE染色的病理变化(×200)

注: a. 正常组; b. 模型组; c. 红景天苷组。

讨论

NAFLD是指酒精性因素以外的病因引起的肝内大泡性脂肪变。NASH是指继发于NAFLD合并脂肪肝变性与炎症的一种疾病。目前,国内实验脂肪性肝炎动物模型建立多选择Wistar大鼠、SD大鼠等。据研究,金黄地鼠和豚鼠在脂代谢方面与人有许多相似之处^[5-6],且本实验采用高脂饮食造模6周,干扰因素少,其饲养符合现代人多食肥甘厚味的饮食特点,诱导金黄地鼠脂质代谢出现异常,其中肝细胞中脂肪滴沉积,肝细胞遭到破坏,引起炎症改变,较之于正常组,模型组金黄地鼠肝重、肝组织TG含量及血清AST活性数据均具有统计学意义,表明本实验金黄地鼠NASH的模型建立成功,且具有时间短的优点。

根据现代药理学研究,红景天具有抗衰老、抗缺氧、抗疲劳、提高免疫力和神经系统保护等药理作用^[7],素有“高原人参”的美称。研究表明,红景天根茎含红景天苷即毛柳苷、对酪醇等,其中红景天苷是其最主要的化学成分,含量约为0.91%~1.32%^[8]。本研究结果表明,红景天苷能明显降低肝组织TG含量及血清AST活性,改善肝组织脂肪变性的病理状态,具有显著的抗NASH病理损伤的药理效应。

王树海等^[9]研究结果显示,红景天苷可抑制脂肪细胞内脂质的积聚,抑制前脂肪细胞向成熟脂肪细胞分化,RT-PCR结果表明红景天苷可能通过抑制PPAR- γ (过氧化物体增殖剂活化受体家族亚型之一)和EBP- α (增强子结合蛋白家族)mRNA的表达,抑制脂肪细胞的分化。本研究数据表明红景天苷对模型组的肝组织TG有降低作用($P < 0.05$),可能与红景天苷抑制脂质在肝细胞中积聚有关。

王晓东等^[10]以肝星状细胞(HSC)为靶细胞,探讨红景天苷对HSC增殖及分泌细胞外基质的影响,结果表明在1~8mg/mL浓度范围内,红景天苷对HSC无细胞毒性作用,却剂量依赖地抑制HSC的增殖,并不同程度抑制I型胶原、透明质酸和层黏连蛋白分泌,其抑制作用呈明显量效依赖关系。这表明红景天苷对肝细胞的保护作用可能存在量效关系。而该研究结果表明,红景天苷具有显著降低血清AST活性的药理作用,提示红景天苷对脂肪类物质的肝细胞损伤可能具有保护作用。

实验结果表明,红景天苷作为红景天的主要有效成分,具有显著的抗NASH药理效应,其确切作用机制值得深入探讨。

参 考 文 献

- [1] 李秀丽,王蒙.非酒精性脂肪肝病发病机制的研究进展.时珍国医国药,2010,21(10):2647-2648
LI Xiu-li,WANG Meng.Research of pathogenesis of nonalcoholic

fatty liver disease.Lishizhen Medicine and Materia Medica Research,2010,21(10):2647-2648

- [2] 李美华,李秋实,张桂珍.红景天药理研究进展.深圳中医系结合杂志,2005,15(5):315-317
LI Mei-hua,LI Qiu-shi,ZHANG Gui-zhen.Progress of pharmacological of rhodiola.Shenzhen Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine,2005,15(5):315-317
- [3] 滕静如,熊佳鹏,肖诚,等.红景天的现代药理学研究进展.中国中医基础医学杂志,2006,12(4):319-320
TENG Jing-ru,XIONG Jia-peng,XIAO Cheng,et al.Development of modern pharmacology study of rhodiola.Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine,2006,12(4):319-320
- [4] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组.非酒精性脂肪性肝病诊疗指南.中华肝病杂志,2006,14(3):161-163
Hepatology Fatty Liver and Alcoholic Liver Disease Study Group of Chinese Medical Association.Guidelines for nonalcoholic fatty liver disease diagnosis and treatment.Chinese Journal of Hepatology,2006,14(3):161-163
- [5] Fernandez M L,Vergara-Jimenez M,Conde K,et al.Regulation of apo lipoprotein B-containing lipoproteins by dietary soluble fiber in uinea pigs.Am J Clin Nutr,1997,65:814
- [6] Nicolosi R J,Wilson T A.The anti-atherogenic effect of dietary soybean protein concentrate in hamsters.Nutr Res,1997,17:1457
- [7] 魏平平,张莉,袁堃,等.红景天苷的提取分离、生物合成与生物活性研究进展.时珍国医国药,2008,19(6):1320-1323
WEI Ping-ping,ZHANG Li,YUAN Kun,et al.Progress of extraction,synthesis and biological activity for salidroside.Lishizhen Medicine and Materia Medica Research,2008,19(6):1320-1323
- [8] 杨晓艳,芦启琴,张晓峰.HPLC法测定红景天根皮中红景天苷的含量.分析实验室,2008(27):305-306
YANG Xiao-yan,LU Qi-qin,ZHANG Xiao-feng.Determination of salidroside in rhodiola root bark by HPLC method.Chinese Journal of Analysis Laboratory,2008(27):305-306
- [9] 王树海,王文健,汪雪峰,等.红景天苷对3T3-L1脂肪细胞糖代谢及细胞分化的影响.中西医结合学报,2004,2(3):193-195
WANG Shu-hai,WANG Wen-jian,WANG Xue-feng,et al.Effects of salidroside on metabolism and cell differentiation in sugar and fat cell 3T3-L1.Journal of Chinese Integrative Medicine,2004,2(3):193-195
- [10] 王晓东,刘永中,刘永刚.红景天苷体外抗肝纤维化的实验研究.时珍国医国药,2004,15(3):138
WANG Xiao-dong,LIU Yong-zhong,LIU Yong-gang.Experimental study of salidroside against hepatic fibrosis in vitro.Lishizhen Medicine and Materia Medica Research,2004,15(3):138

(收稿日期:2012年7月21日)