

虎金方通过 SIRT1/AMPK 通路对代谢相关脂肪性肝病小鼠肝脏脂质合成的影响

林秋红¹, 梁齐¹, 施家希², 武敬文¹, 黄明¹, 施旭光¹(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 探讨虎金方对代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)模型小鼠的治疗作用及脂质合成的相关机制。**方法** 将 50 只 C57BL/6 雄性小鼠随机分为正常组、模型组及虎金方高、中、低剂量组(21.24、10.62、5.31 g·kg⁻¹)。正常组小鼠给予维持饲料, 其余各组均给予高脂饲料, 连续饲养 14 周以复制 MAFLD 动物模型。从第 15 周开始, 正常组和模型组小鼠按 10 mL·kg⁻¹ 给予 0.9% 生理盐水灌胃, 虎金方各剂量组分别给予相应剂量的浓煎药液灌胃(10 mL·kg⁻¹), 每日 1 次, 连续给药 8 周。末次给药后, 禁食不禁水 24 h, 测定体质量后进行解剖, 测定肝脏湿质量, 计算肝脏系数; 采用 RT-PCR 及 Western Blot 法检测肝脏组织中沉默信息调节因子 1(SIRT1)、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、甾醇调节元件结合蛋白(SREBP)、脂肪酸合成酶(FAS) mRNA 及蛋白表达水平。**结果** 与正常组比较, 模型组小鼠的体质量、肝湿质量及肝脏系数均显著增加($P < 0.001$); 肝脏 SIRT1 mRNA 及蛋白表达明显下调($P < 0.01$, $P < 0.001$), AMPK、SREBP、FAS mRNA 及蛋白表达均明显上调($P < 0.01$, $P < 0.001$)。与模型组比较, 虎金方高剂量组小鼠的体质量、肝湿质量及肝脏系数均明显降低($P < 0.05$, $P < 0.001$), 肝脏 SIRT1 mRNA 及蛋白表达明显上调($P < 0.01$, $P < 0.001$), AMPK、SREBP、FAS mRNA 及蛋白表达均明显下调($P < 0.05$, $P < 0.001$)。**结论** 虎金方可能通过调节 SIRT1/AMPK 通路, 促进肝脏脂质代谢, 抑制肝脏脂质合成, 从而缓解 MAFLD 的进展。

关键词: 虎金方; 代谢相关脂肪性肝病; 小鼠; 脂质合成; 沉默信息调节因子 1; 腺苷酸活化蛋白激酶

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)06-0765-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.06.003

The Effect of *Hu Jin* Decoction on Liver Lipid Synthesis in MAFLD Mice via SIRT1/AMPK Pathway

LIN QiuHong¹, LIANG Qi¹, SHI Jiayi², WU Jingwen¹, HUANG Ming¹, SHI Xuguang¹(1. School of Pharmaceutical Science, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. First College of Clinical Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To investigate the therapeutic effect of *Hu Jin* decoction in metabolic associated fatty liver disease(MAFLD) mice and the mechanism of liver lipid synthesis. **Methods** Male SPF grade C57BL/6 mice were randomly divided into 5 groups, including the normal group, the model group and three groups of *Hu Jin* Decoction with high, medium and low dosages(21.24, 10.62, 5.31 g·kg⁻¹). Mice in the normal group were given maintenance diet, while the other groups were given high fat diet(HFD) and fed for 14 weeks to establish MAFLD model. Drugs were administered to mice once a day for 8 weeks starting at week 15. The normal group and the model group were given 0.9% saline(10 mL·kg⁻¹) and the *Hu Jin* decoction groups with different dosages were given the concentrated decoction respectively. After the last administration, the mice were fasted but drank water freely for 24 h. The mice were weighed and sacrificed to observe the color change of liver tissue and the liver mass was weighed to calculate the liver coefficient. The mRNA and protein expression levels of SIRT1, AMPK, SREBP and FAS in liver slices were detected using RT-PCR and Western Blot. **Results** Compared with the normal group, mice in the model

收稿日期: 2020-10-15

作者简介: 林秋红, 女, 硕士研究生, 研究方向: 调理肝脾疾病方药的临床和实验研究。Email: 1920574004@qq.com。通信作者: 施旭光, 男, 教授, 研究方向: 调理肝病方药的临床和实验研究。Email: sxg6902@126.com。

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2017A030313730); 深圳市福田区卫生公益性科研项目(FTWS2018056)。

groups showed increased liver wet weight and liver coefficient ($P < 0.001$); the expression of SIRT1 mRNA and protein expression reduced significantly ($P < 0.01$, $P < 0.001$), the expression of AMPK, SREBP, FAS mRNA and proteins increased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.001$). Compared with the model group, all dose groups showed decreased body mass, liver wet weights and liver coefficients ($P < 0.05$, $P < 0.001$), the expression of SIRT1 mRNA of high dose group mice and SIRT1 proteins in all dose groups' mice increased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.001$), the expression of AMPK, SREBP, FAS mRNA and proteins reduced significantly ($P < 0.05$, $P < 0.001$).

Conclusion The experimental results indicated that *Hu Jin* decoction has curative effect on MAFLD, which might promote liver lipid metabolism, reduce the lipid synthesis by regulating the SIRT1/AMPK pathway.

Keywords: *Hu Jin* decoction; metabolic associated fatty liver disease; mice; lipid synthesis; SIRT1; AMPK

代谢相关脂肪性肝病(Metabolic associated fatty liver disease, MAFLD)曾用名为非酒精性脂肪性肝病(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD),是目前世界上最常见的慢性肝病之一,其发病常与肥胖和2型糖尿病等代谢紊乱疾病有关^[1]。MAFLD现已成为我国第一大慢性肝病,也是健康体检中肝脏生化指标异常的首要原因,其疾病谱包括从单纯性脂肪变性到非酒精性脂肪性肝炎、纤维化、肝硬化和肝细胞癌^[2]。在MAFLD的疾病进展过程中,肝脏脂质代谢的失衡发挥了重要的影响^[3]。

沉默信息调节因子1(SIRT1)是一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)的组蛋白去乙酰化酶,能够调节细胞内的 NAD^+ 水平以维持能量平衡^[4]。SIRT1的过表达可以激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK),进而增加脂肪酸的氧化,减少葡萄糖的输出,同时减少总胆固醇(TC)和总甘油三酯(TG)的合成^[5-6]。研究^[7-8]表明,提高SIRT1/AMPK通路活性有助于减少脂质堆积,改善肝脏脂肪变性。

虎金方在临床上被用于治疗MAFLD,能够有效改善脂肪肝^[9]。本课题组前期研究^[10-11]表明,虎金方能够改善MAFLD小鼠的肥胖情况、血脂水平及肝功能,并能减轻肝脏的脂质沉积,可能与其增强CPT1A、ACOX1脂肪酸氧化限速酶的表达,调节SIRT1/过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α)通路,从而促进脂肪酸在肝细胞内的氧化有关。本研究拟建立MAFLD小鼠模型,探讨虎金方通过SIRT1/AMPK通路对肝脏脂质合成的调控作用,进一步阐释MAFLD模型小鼠脂质代谢失衡的病理机制及虎金方对该疾病的治疗作用,为MAFLD的中医药临床治疗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 动物及饲料 健康C57BL/6雄性小鼠,50只,

SPF级,6~8周龄,体质量18~22 g,购于中国农科院哈尔滨兽医研究所,动物生产许可证号:SCXK(黑)2018-0003,质量合格证号:TP-2018451。动物饲养于中国农科院哈尔滨兽医研究所动物房,室温:(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度:50%~70%。实验获得中国农科院哈尔滨兽医研究所实验动物伦理委员会批准,编号:IACUC20181105-03。高脂饲料(批号:20180912,饲料热量:5 kcal $\cdot\text{g}^{-1}$,脂肪热量35%,蛋白质热量18%,碳水化合物热量47%)、维持饲料(批号:20181020,饲料热量:3.8 kcal $\cdot\text{g}^{-1}$,脂肪热量10%,蛋白质热量15%,碳水化合物热量75%),均购于哈尔滨维科生物技术有限公司。

1.2 药物及试剂 虎金方药物组成:虎杖(批号:180201671)、郁金(批号:180301271)、泽泻(批号:181203391)、三七(批号:181105571)、山楂(批号:181203831)、灵芝(批号:181204791),所用中药饮片均来源于广东康美药业公司,经黑龙江中医药大学中药鉴定学教研室王喜军教授鉴定为正品。

Simply P 总RNA提取试剂盒(批号:SC52M1-2020526),杭州博日科技公司;Vazyme RT-PCR反转录试剂盒(批号:P611-02),南京诺唯赞生物科技公司;cDNA扩增试剂盒(批号:RR014A-2020730),日本Takara公司;Western Blot一抗稀释液(批号:062320191021)、二抗稀释液(批号:011020191020)、RIPA裂解液(批号:P0013B、P0013C)、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(批号:P0012A),均购于上海碧云天生物技术公司;ECL化学发光试剂(批号:WP20005),美国Thermo Fisher公司;SIRT1兔抗(批号:12193)、甾醇调节元件结合蛋白(SREBP)兔抗(批号:ab235177)、脂肪酰合成酶(FAS)兔抗(批号:ab178076)、AMPK兔抗(批号:ab194920),均购自英国Abcam公司;GAPDH

兔抗(批号: 10494-1-AP), 美国 Proteintech Group 公司; 抗兔二抗(批号: RS020103), 美国 ImmunoWay 公司; 蛋白酶抑制剂(批号: 20180201), 北京索莱宝科技公司; 核酸酶抑制剂(批号: 20180716), 金克隆(北京)生物技术公司。

1.3 主要仪器 电子天平, 深圳市安普电子科技有限公司; RE-501 型旋转蒸发器, 上海力辰仪器科技有限公司; TC-15 型套式恒温器, 海宁市新华医疗器械厂; P330 型微量紫外分光光度计, 德国 IMPLIN 公司; TGL-16A 型台式高速冷冻离心机, 长沙平凡仪器仪表有限公司; 金属浴锅, 常州市华怡仪器制造有限公司; 光学显微镜, 德国 Leica 公司; StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪, 美国 Applied Biosystems 公司; TC-3000G 型逆转录仪, 法国 TECHNE 公司; 半干转膜仪、酶标仪, 美国 Thermo Fisher 公司; Wes 全自动蛋白质印迹定量分析仪, 美国 ProteinSimple 公司。

1.4 虎金方浓煎液的制备 将中药饮片虎杖、郁金、泽泻、山楂、灵芝、三七按 3:3:3:2:2:1 的比例依次称取, 置于圆底烧瓶内; 加入 8 倍量超纯水, 浸泡 30 min, 加热冷凝回流提取 1 h, 过滤, 收集药液; 药渣冷却后再加入 6 倍量超纯水, 浸泡 30 min, 再次加热冷凝回流提取 1 h, 过滤, 收集药液; 合并 2 次提取药液, 浓缩至相应浓度, 离心后取浓缩药液上清液, 即得; 置于-20℃保存备用。

1.5 分组、模型复制及给药 50 只小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为 5 组: 正常组、模型组及虎金方高(21.24 g·kg⁻¹)、中(10.62 g·kg⁻¹)、低(5.31 g·kg⁻¹)剂量组, 称量并记录各组小鼠初始体质量。正常对照组给予维持饲料, 其余各组给予高脂饲料连续饲养 14 周以复制 MAFLD 动物模型。模型建立后(从第 15 周开始)继续给予高脂饲料, 虎金方各剂量组分别灌胃相应剂量的浓煎药液, 灌胃体积 10 mL·kg⁻¹, 每日 1 次, 连续给药 8 周; 正常组和模型组灌胃等量 0.9%生理盐水。

1.6 标本采集 末次给药结束后, 小鼠禁食不禁水 24 h; 以 2%戊巴比妥麻醉小鼠, 轻轻剪开腹部, 拨开内容物, 取出完整的肝脏, 将肝脏组织分装于冻存管内, 置于-80℃保存备用。

1.7 小鼠体质量、肝脏系数测定 模型复制及给药期间, 每周称量并记录各组小鼠体质量; 标本采集后, 称取并记录小鼠肝脏湿质量; 计算: 小鼠肝脏系数(%)=肝脏湿质量(g)/体质量(g)×100%。

1.8 RT-PCR 法检测 SIRT1、AMPK、SREBP、FAS mRNA 的表达 采用 Simply P 总 RNA 提取试剂盒提取肝脏组织总 RNA, 采用紫外分光光度法检测 RNA 含量和纯度(A₂₆₀/A₂₈₀=1.8~2.0)。采用 Vazyme 逆转录试剂盒及 cDNA 扩增试剂盒进行逆转录反应, 反应体系为 20 μL, 反应程序: 95℃ 5 s, 55℃ 30 s, 共 40 个循环。扩增反应后取平均阈值循环数作为每个样本的 Ct 值, 以 GAPDH 作为内参, 采用 2^{-ΔΔCt}法计算目的基因的相对表达量, 实验重复 3 次。引物合成由上海捷瑞生物工程有限公司完成, 引物序列见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for RT-PCR

引物名称	引物序列
SIRT1	Forward primer: 5'-AAATATTAATAAATAGGGAACCTTT-3'
	Reverse primer: 5'-TTACTAATCTGCTCCTTTG-3'
SREBP-1c	Forward primer: 5'-AACTGCCCCATCCACCGACTC-3'
	Reverse primer: 5'-TGCCTCCTCCACTGCCACA-3'
FAS	Forward primer: 5'-CTGTCAACCATGCCAACCC-3'
	Reverse primer: 5'-CATCCACCCAAATCACCC-3'
AMPK	Forward primer: 5'-AGGTGGACATCTGGAGCA-3'
	Reverse primer: 5'-GGCTGATTACTGAAGGCT-3'
GAPDH	Forward primer: 5'-TGTTTCCTCGTCCCCTAG-3'
	Reverse primer: 5'-CAATCTCCACTTTGCCACT-3'

1.9 Western Blot 法检测肝组织中 SIRT1、AMPK、SREBP 及 FAS 蛋白表达 取出小鼠肝脏组织, 称定质量, 剪碎, 加入 RIPA 裂解液 300 μL、蛋白酶抑制剂 1 μL、核酸酶抑制剂 3 μL; 匀浆后, 于冰上静置, 充分裂解 30 min 后, 于低温离心机上以 4℃、14 010×g 离心 3 min; 收集上清液并分装, 于-20℃保存。采用 BCA 蛋白定量法测定上清液的蛋白浓度后, 取适量蛋白样品, 加入 RIPA 裂解液及上样缓冲液制备样品。蛋白上样量为 30 μg, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 转至 PVDF 膜; 于 5%脱脂奶粉中室温封闭 2 h, 加入一抗 SIRT1(1:1 000)、AMPK(1:1 000)、SREBP(1:1 000)、FAS(1:1 000)及 β-actin(1:1 000)兔抗单克隆抗体, 于 4℃冰箱摇床孵育过夜; TBST 洗涤 3 次, 再加入二抗稀释液(1:10 000), 室温孵育 1 h; TBST 洗涤 3 次后, 采用 ECL 发光液进行曝光显影; 扫描曝光后的蛋白条带, 采用 ImageJ 软件计算蛋白条带的光密度(OD)值并进行半定量分析。

1.10 统计学处理方法 采用 SPSS 22.0 统计软件进行

数据分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示; 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 两两比较用 LSD 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 虎金方对 MAFLD 小鼠一般指标的影响 模型复制前, 各组小鼠各方面情况良好, 体质量无明显差异; 造模小鼠在给予高脂饲料喂养 2 周后开始, 体质量较正常组小鼠有明显增长(见图 1), 呈现出向心性肥胖, 毛色油光发亮, 部分小鼠脱毛, 倦怠懒动, 排泄量增多等现象。与正常组比较, 模型组小鼠的体质量、肝湿质量及肝脏系数均显著增加, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。与模型组比较, 虎金方高剂量组小鼠的体质量明显降低($P < 0.05$), 虎金方各剂量组小鼠的肝湿质量均明显降低($P < 0.05$, $P < 0.001$), 虎金方中、高剂量组的小鼠肝脏系数显著降低($P < 0.001$)。结果表明, 虎金方能够有效降低 MAFLD 小鼠的体质量及肝脏系数。结果见表 2。

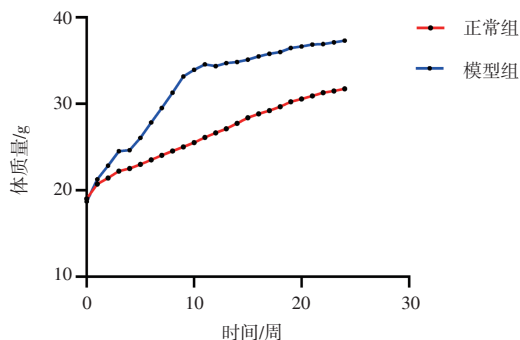
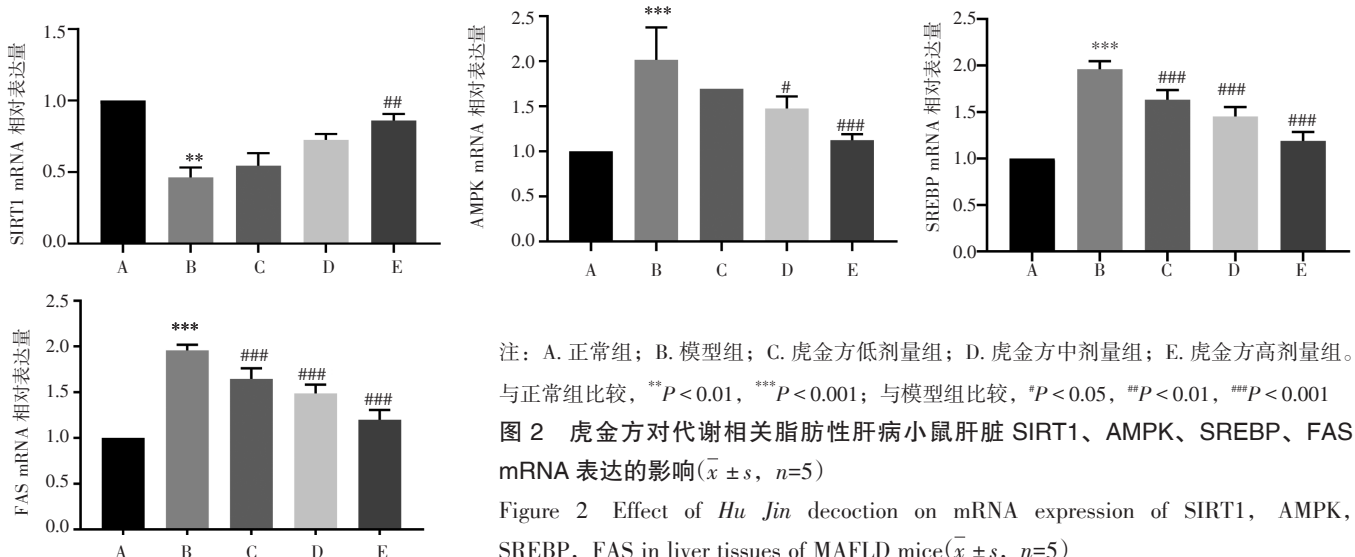


图 1 代谢相关脂肪性肝病小鼠的体质量变化($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Figure 1 Body mass change of the MAFLD mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)



注: A. 正常组; B. 模型组; C. 虎金方低剂量组; D. 虎金方中剂量组; E. 虎金方高剂量组。

与正常组比较, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$; 与模型组比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$

图 2 虎金方对代谢相关脂肪性肝病小鼠肝脏 SIRT1、AMPK、SREBP、FAS mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Figure 2 Effect of *Hu Jin* decoction on mRNA expression of SIRT1, AMPK, SREBP, FAS in liver tissues of MAFLD mice($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

表 2 虎金方对代谢相关脂肪性肝病小鼠体质量、肝湿质量、肝脏系数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of *Hu Jin* decoction on the body mass, wet liver weight and liver coefficient of MAFLD mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g	肝湿质量/g	肝脏系数/%
正常组	-	31.75 $\pm$ 1.504	1.087 $\pm$ 0.104	3.418 $\pm$ 0.199
模型组	-	37.31 $\pm$ 1.897 ^{***}	1.845 $\pm$ 0.120 ^{***}	4.945 $\pm$ 0.195 ^{***}
虎金方低剂量组	5.31	36.31 $\pm$ 2.269	1.737 $\pm$ 0.097 [#]	4.798 $\pm$ 0.386
虎金方中剂量组	10.62	35.42 $\pm$ 2.024	1.558 $\pm$ 0.092 ^{***}	4.413 $\pm$ 0.370 ^{***}
虎金方高剂量组	21.24	34.78 $\pm$ 2.299 [#]	1.284 $\pm$ 0.097 ^{***}	3.712 $\pm$ 0.446 ^{***}

注: 与正常组比较, $***P < 0.001$; 与模型组比较, $*P < 0.05$, $***P < 0.001$

2.2 虎金方对 MAFLD 小鼠肝脏组织中 SIRT1、AMPK、SREBP、FAS mRNA 表达的影响 结果见图 2。与正常组比较, 模型组小鼠肝脏的 SIRT1 mRNA 表达明显下调($P < 0.01$), AMPK、SREBP、FAS mRNA 表达均明显上调($P < 0.001$)。与模型组比较, 虎金方高剂量组小鼠肝脏的 SIRT1 mRNA 表达明显上调($P < 0.01$), 中、高剂量组的 AMPK mRNA 表达明显下调($P < 0.05$, $P < 0.001$), 各剂量组的 SREBP、FAS mRNA 表达均明显下调($P < 0.05$, $P < 0.001$)。结果表明, 虎金方可能通过上调 MAFLD 小鼠 SIRT1 mRNA 的表达, 进而下调 AMPK、SREBP、FAS mRNA 的表达水平。

2.3 虎金方对 MAFLD 小鼠肝脏 SIRT1、AMPK、SREBP、FAS 蛋白表达的影响 结果见表 3、图 3。与正常组比较, 模型组小鼠肝脏的 SIRT1 蛋白表达显著下调($P < 0.001$), AMPK、SREBP、FAS 蛋白表达均显著上调($P < 0.01$, $P < 0.001$)。与模型组比较, 虎金方各剂量组小鼠肝脏的 SIRT1 蛋白表达显

表 3 虎金方对代谢相关脂肪性肝病小鼠肝脏组织中 SIRT1、SREBP、FAS、AMPK 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 3 Effect of *Hu Jin* decoction on protein expression of SIRT1, SREBP, FAS and AMPK in liver tissues of MAFLD mice($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	蛋白相对表达量			
		SIRT1	AMPK	SREBP	FAS
正常组	—	1.545 ± 0.062 75	0.546 4 ± 0.009 95	0.448 1 ± 0.029 67	0.775 3 ± 0.081 6
模型组	—	0.493 ± 0.018 06 ^{***}	0.851 5 ± 0.012 68 ^{***}	0.701 0 ± 0.074 22 ^{***}	1.019 0 ± 0.079 1 ^{**}
虎金方低剂量组	5.31	1.630 ± 0.061 75 ^{***}	0.547 2 ± 0.008 09 ^{***}	0.437 0 ± 0.028 36 ^{***}	0.700 0 ± 0.063 4 ^{***}
虎金方中剂量组	10.62	1.810 ± 0.047 39 ^{***}	0.681 6 ± 0.007 10 ^{***}	0.329 5 ± 0.018 20 ^{***}	0.924 4 ± 0.076 6
虎金方高剂量组	21.24	1.442 ± 0.019 61 ^{***}	0.664 9 ± 0.015 99 ^{***}	0.590 8 ± 0.041 60 [#]	0.788 9 ± 0.050 5 ^{***}

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

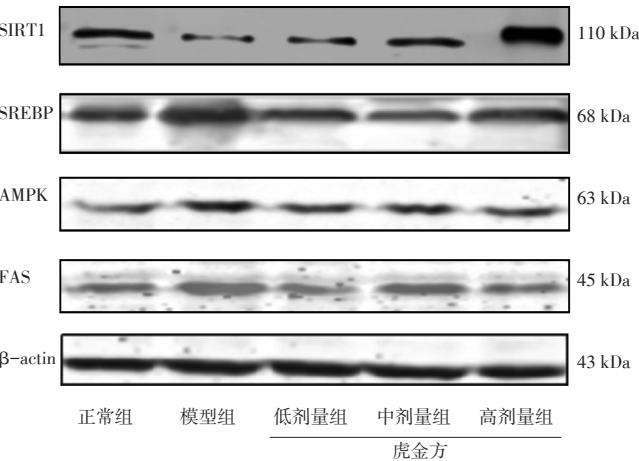


图 3 虎金方对代谢相关脂肪性肝病小鼠肝脏组织中 SIRT1、SREBP、FAS、AMPK 蛋白表达的影响

Figure 3 Effect of *Hu Jin* decoction on protein expression of SIRT1, SREBP, FAS and AMPK in liver tissues of MAFLD mice

著上调($P < 0.001$)，AMPK、SREBP 蛋白表达明显下调($P < 0.05$ ， $P < 0.001$)；虎金方低、高剂量组的 FAS 蛋白表达显著下调($P < 0.001$)。结果表明，虎金方可能通过上调 MAFLD 小鼠的 SIRT1 蛋白表达，介导 SIRT1/AMPK 通路调节相关蛋白，进而改善脂肪肝病。

3 讨论

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)的病变特点是在没有明显的乙醇消耗或其他病因的情况下发生肝脏脂肪变性，导致肝脏脂质的过度堆积，继而引发脂质过氧化应激和进一步的肝损伤^[12]。沉默信息调节因子 1(SIRT1)是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)的主要代谢感受器，可以通过去乙酰化转录因子和组蛋白调节细胞的新陈代谢，维持机体能量平衡^[4]。腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)是位于 SIRT1 下游的靶点蛋白，在肝脏中可通过磷酸化参与脂质代谢的调节，

其活化能够减轻肝损伤和炎症，抑制肝细胞凋亡和改善 MAFLD^[5-6, 13]。

固醇调节元件结合蛋白(SREBP)主要表达于肝细胞和脂肪细胞，是调控脂肪酸合成酶(FAS)基因表达，控制脂肪链合成和肝脏脂质生物合成的重要转录因子，胰岛素可通过激活肝脏 X 受体促进 SREBP 的转录^[14-15]。SREBP 可进一步通过调控其底物 FAS 表达增加，促进肝脏或脂肪组织的脂质合成^[16]。AMPK 的激活能够调节 SREBP 的表达，进而抑制参与脂肪生成相关转录因子的表达，减少脂肪酸的合成和脂质积累，改善肝脏脂肪病变^[15]。因此下调 SREBP、FAS 的表达可以进一步减轻肝脏脂肪沉积及缓解胰岛素抵抗。

在前期研究^[11]中发现，SIRT1 可以通过去乙酰化过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α (PGC-1 α)，进而活化过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α)，增强其对相关脂肪酸氧化限速酶的表达，从而促进脂肪酸氧化。研究^[17]表明，AMPK 能够通过靶向 PPAR- α 调控的相关因子进一步调节脂肪酸氧化。因此，推测 SIRT1 介导的 AMPK 活化可能是通过调节脂质代谢以治疗 MAFLD 的新机制或药物靶点。

在前期实验研究^[10-11]中，已证明虎金方可明显降低 MAFLD 模型小鼠的血清总胆固醇(TC)、甘油三脂(TG)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)及门冬氨酸氨基转移酶(AST)含量，明显减少其肝组织脂肪空泡，最终有效减轻肝损伤、降低血脂及肝脏脂质沉积。本研究结果进一步表明，虎金方可上调 MAFLD 模型小鼠肝脏组织中 SIRT1 mRNA 及蛋白的表达，下调肝脏组织中促进脂质合成的靶蛋白 SREBP、FAS 的表达，从而减轻肝脏脂质沉积；提示虎金方可能通过调节 SIRT1/AMPK 通路，促进肝脏脂质代谢，抑制肝脏脂质合成，从而缓解 MAFLD 的进展。

参考文献:

- [1] 薛芮, 范建高. 代谢相关脂肪性肝病新定义的国际专家共识简介[J]. 实用肝脏病杂志, 2020, 23(3): 457-460.
- [2] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病组, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018年更新版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(5): 947-957.
- [3] DONNELLY K L, SMITH C I, SCHWARZENBERG S J, et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Clin Invest, 2005, 115(5): 1343-1351.
- [4] ZHANG Y, GENG C, LIU X, et al. Celastrol ameliorates liver metabolic damage caused by a high-fat diet through Sirt1[J]. Mol Metab, 2016, 6(1): 138-147.
- [5] YU J W, SUN L J, LIU W, et al. Hepatitis C virus core protein induces hepatic metabolism disorders through down-regulation of the SIRT1-AMPK signaling pathway[J]. Int J Infect Dis, 2013, 17(7): 539-545.
- [6] HOU X, XU S, MAITLAND-TOOLAN K A, et al. SIRT1 regulates hepatocyte lipid metabolism through activating AMP-activated protein kinase[J]. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283: 20015-20026.
- [7] MILLER R A, BIRNBAUM M J. An energetic tale of AMPK-independent effects of metformin[J]. Clin Invest, 2010, 120(7): 2267-2270.
- [8] WU L, ZHANG L, LI B, et al. AMP-Activated protein kinase (AMPK) regulates energy metabolism through modulating thermogenesis in adipose tissue[J]. Front Physiol, 2018, 9: 122-130.
- [9] 黄兆胜, 钟仕卿, 徐仲宏, 等. 虎金丸治疗脂肪肝63例临床观察[J]. 实用中西医结合杂志, 1997, 10(21): 2128-2130.
- [10] 张嘉骏, 施旭光, 黄明, 等. 虎金方对非酒精性脂肪肝小鼠脂肪酸氧化相关酶的影响[J]. 中药材, 2020, 40(3): 721-724.
- [11] 黄明, 张嘉骏, 施旭光, 等. 虎金方对小鼠非酒精性脂肪肝的作用及对SIRT1/PPAR α 通路的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(4): 419-424.
- [12] MUSSO G, GAMBINO R, BO S, et al. Should nonalcoholic fatty liver disease be included in the definition of metabolic syndrome? A cross-sectional comparison with adult treatment Panel III criteria in nonobese nondiabetic subjects[J]. Diabetes Care, 2008, 31(3): 562-568.
- [13] KIM Y D, LEE K M, HWANG S L, et al. Inhibition of cereblon by fenofibrate ameliorates alcoholic liver disease by enhancing AMPK[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(12): 2662-2670.
- [14] ELHANATI S, KANFI Y, VARVAK A, et al. Multiple regulatory layers of SREBP1/2 by SIRT6[J]. Cell Rep, 2013, 4(5): 905-912.
- [15] DAY E A, FORD R J, STEINBERG G R. AMPK as a therapeutic target for treating metabolic diseases[J]. Trends Endocrinol Metab, 2017, 28(8): 545-560.
- [16] ZHAO P, SALTIEL A R. From overnutrition to liver injury: AMP-activated protein kinase in nonalcoholic fatty liver diseases[J]. Biol Chem, 2020, 295(34): 12279-12289.
- [17] BUMPUS N N, JOHNSON E F. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide-ribonucleoside (AICAR)-stimulated hepatic expression of Cyp4a10, Cyp4a14, Cyp4a31, and other peroxisome proliferator-activated receptor α -responsive mouse genes is AICAR 5'-monophosphate-dependent and AMP-activated protein kinase-independent[J]. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2011, 339(3): 886-895.

(编辑: 邹元平)

《中药新药与临床药理》“临床研究”栏目2021年扩大征稿

为更全面地反映中医药学术研究成果, 打造高质量的中医药学术交流平台, 优化杂志学科内容结构及满足作者的需求, 本刊从2021年起加强对临床中药研究科研成果的报道。栏目论文基本要求:

1. 研究对象: 中药新药(各期临床研究)、新上市后的中药制剂、医院中药制剂及已有一定研究基础的中药汤剂等。
2. 研究类型: 临床随机对照试验。

投稿网站: www.zyxy.com.cn。本刊只接受稿件采编系统投稿, 不接收纸质和Email投稿, 系统投稿不收取审稿费。

入选核心期刊情况: 本刊为中国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD, 核心库)来源期刊及RCCSE中国核心学术期刊。