

黄芪葛根汤对高脂血症大鼠的降血脂作用机制研究

周遵明^{1,2}, 谭梅傲¹, 彭冲^{1,3}, 于小庆¹, 叶晋通¹, 凡思敏¹, 柯雪红³, 黄可儿³(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学岭南医学研究中心, 广东 广州 510405; 3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 探讨黄芪葛根汤对高脂血症大鼠的降脂作用机制。**方法** 将 50 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、阳性药组(阿托伐他汀钙片, 5 mg·kg⁻¹)及黄芪葛根汤低、高剂量组(5、10 g·kg⁻¹), 每组 10 只。采用高脂饲料喂养大鼠复制高脂血症模型, 模型复制的同时各给药组按照上述剂量灌胃给药, 正常组和模型组给予等量生理盐水灌胃, 每天 1 次, 连续灌胃 20 d。检测大鼠血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-c)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-c)水平; 采用 HE 及油红染色观察大鼠肝脏病理变化; 采用 qPCR 及 Western Blot 法检测小肠组织尼曼-匹克 C1 型类蛋白 1(NPC1L1)、三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G5(ABCG5)和三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G8(ABCG8) mRNA 及蛋白表达水平。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠血清 TC、TG、LDL-c 水平及小肠组织 NPC1L1 mRNA 及蛋白表达水平明显升高($P < 0.01$, $P < 0.05$), HDL-c 水平明显降低($P < 0.01$), 肝细胞脂肪变性程度和脂滴积聚明显增加。与模型组比较, 黄芪葛根汤低剂量组大鼠血清 TC、TG、LDL-c 水平与小肠组织 NPC1L1 mRNA 及蛋白表达水平明显降低($P < 0.01$, $P < 0.05$), ABCG5、ABCG8 mRNA 及蛋白表达水平明显升高($P < 0.01$, $P < 0.05$), 肝细胞脂肪变性程度明显降低, 脂滴积聚明显减少。**结论** 黄芪葛根汤对高脂血症大鼠具有明显降血脂作用, 能降低肝细胞脂肪变性程度和减少肝细胞脂滴积聚, 可能与其下调小肠组织 NPC1L1 的表达以抑制胆固醇的吸收, 同时上调小肠组织 ABCG5 及 ABCG8 的表达而增加胆固醇的排泄有关。

关键词: 黄芪葛根汤; 高脂血症; 尼曼-匹克 C1 型类蛋白 1; 三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G5; 三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G8; 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)07-0945-07

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.07.007

The Mechanism of *Huangqi Gegen* Decoction on Serum Lipid Metabolism in Hyperlipidemic Rats

ZHOU Zunming^{1,2}, TAN Meiao¹, PENG Chong^{1,3}, YU Xiaoqing¹, YE Jintong¹, FAN Simin¹, KE Xuehong³, HUANG Keer³ (1. First Clinical School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Lingnan Medical Research Center of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 3. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To observe the lipid-lowering mechanism of *Huangqi Gegen* decoction(QG) in hyperlipidemia rats. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into control group, model group, positive drug group(atorvastatin calcium tablets, 5 mg·kg⁻¹) and QG low, high dose groups(5, 10 g·kg⁻¹), with 10 rats in each group. Rats were fed with high-fat diet to establish hyperlipidemia model. Each intervention group was given the above-mentioned dose at the same time of modeling. Control group and model group were given the same amount of normal saline once a day for 20 days. The serum levels of total cholesterol(TC), triglyceride(TG), high density lipoprotein

收稿日期: 2021-03-30

作者简介: 周遵明, 男, 博士研究生, 研究方向: 中医药治疗脾胃肝胆疾病。Email: 119490793@qq.com。通信作者: 黄可儿, 女, 教授, 主任医师, 研究方向: 中医药治疗脾胃肝胆疾病。Email: hke8989@163.com。

基金项目: 广州中医药大学“一流学科建设”学科研究项目(XK2019011); 广州中医药大学第一附属医院“创新强院科研项目”(院内制剂开发项目, 211010010602); 国家自然科学基金项目(82074099)。

cholesterol(HDL-c) and low density lipoprotein cholesterol(LDL-c) were measured. The pathological changes of rat liver were observed by HE and oil red staining. The mRNAs and proteins expression of Niemann-Pick C1-Like1 (NPC1L1), ATP Binding Cassette Transporter G5 (ABCG5) and ATP Binding Cassette Transporter G8 (ABCG8) in small intestine were detected by qPCR and Western Blot. **Results** Compared with the control group, the levels of serum TC, TG and LDL-c, the expression of NPC1L1 mRNA and protein in small intestine were significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), the level of serum HDL-c was significantly decreased ($P < 0.01$), the degree of fatty degeneration of hepatocytes and the accumulation of lipid droplets in hepatocytes were significantly increased in model group. Compared with the model group, the levels of serum TC, TG and LDL-c, the expression of NPC1L1 mRNA and protein in small intestine were significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), while the expression of ABCG5 and ABCG8 mRNAs and proteins were significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), the degree of fatty degeneration of hepatocytes and the accumulation of lipid droplets in hepatocytes were significantly reduced in QG low dose group. **Conclusion** *Huangqi Gegen* decoction can obviously reduce serum lipid, the degree of fatty degeneration and the accumulation of lipid droplets in hepatocytes in hyperlipidemic rats, which may be related to the down-regulation of NPC1L1 expression in small intestine to inhibit cholesterol absorption, and the up-regulation of ABCG5 and ABCG8 expression in small intestine to increase cholesterol excretion.

Keywords: *Huangqi Gegen* decoction; hyperlipidemia; NPC1L1; ABCG5; ABCG8; rats

高脂血症是诱发冠心病、动脉粥样硬化、脂肪肝等心脑血管疾病和代谢性疾病的主要危险因素^[1],寻找安全、有效的调节血脂药物具有重要意义。胆固醇在生物体内的代谢过程包括自我合成、转化、吸收和排泄等,尼曼-匹克 C1 型类蛋白 1(Niemann-Pick C1-like1, NPC1L1)能够促进生物体内胆固醇的吸收^[2],而与之相反,三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G5/G8(ATP-binding cassette transporter G5/G8, ABCG5/ABCG8)则能够促进胆固醇的排泄^[3],对机体胆固醇的稳态起关键作用。因此,抑制 NPC1L1 的表达,促进 ABCG5、ABCG8 的表达是治疗高脂血症的重要策略。

黄芪-葛根药对来源于清代李用粹所著的《证治汇补》,其中记载:“黄芪一两,葛根五钱。治酒郁,内热恶寒。煎服,大汗出愈”。本课题组前期研究^[4-5]发现,黄芪-葛根药对对乙醇或吡啶美辛诱导的胃黏膜损伤有保护作用。课题组还发现,广陈皮配伍黄芪-葛根药对后,组成的黄芪葛根汤(QG)对四氯化碳或乙醇引起的肝损伤具有保护作用,其护肝作用与抗氧化应激有关^[6-7]。通过高效液相色谱法定性分析表明,黄芪葛根汤中含有川陈皮素、橙皮苷、葛根素、3'-羟基葛根素、染料木素、毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮-7-葡萄糖苷、大豆苷、大豆苷元、芒柄花素、染料木苷和桔皮素等 12 种化学成分^[6]。其中橙皮苷、川陈皮素、葛根素等成分均有一定的调节

血脂作用^[8-10]。在上述研究基础上,本课题组发现黄芪葛根汤还具有显著的降脂作用^[11]。故本研究拟通过观察黄芪葛根汤对高脂诱导的高脂血症模型大鼠的血脂、肝脏病理,以及小肠组织的 NPC1L1、ABCG5、ABCG8 mRNA 及蛋白表达水平等指标的影响,探讨其降血脂的作用及相关机制。

1 材料与方法

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 50 只,SPF 级,8 周龄,体质量 180~200 g,购于广东省医学动物实验中心,动物合格证号:44007200079802,动物使用许可证号:SYXK(粤)2018-0092,动物实验伦理编号:TCMF1-2019011。室内温度 22~24 ℃,相同光照下喂养,允许大鼠自由摄食、饮水。

1.2 药物及试剂 黄芪,广东普宁康美药业股份有限公司,批号:190201651;野葛根,北京同仁堂饮片有限责任公司,批号:20190103;广陈皮,广东江门市新会区祥益陈皮有限公司,批号:2013001。以上药材经广州中医药大学第一附属医院柯雪红研究员鉴定合格。按本课题组前期研究^[6]方法制备黄芪葛根汤,按原方配伍,黄芪:葛根:广陈皮=30:10:5,称取黄芪 180 g、野葛根 60 g、广陈皮 30 g,加 5 400 mL 水($m:V=1:20$)浸泡 30 min;煮沸 30 min,过滤;第 2、3 次均加入 4 050 mL 水($m:V=1:15$)煎煮并煮沸 30 min,过滤。将 3 次滤液合并后,继续

通过煮沸浓缩至含生药 0.5、1.0 g·mL⁻¹。阿托伐他汀钙片(阳性药),辉瑞制药有限公司,批号:4309784;将阿托伐他汀钙片充分研磨成粉末,溶于 0.5% CMC-Na,配制成 0.5 mg·mL⁻¹的混悬液。

高脂饲料由广东省医学动物实验中心提供,配方:蔗糖 20%、猪油 15%、胆固醇 1.2%、胆酸钠 0.2%、酪蛋白 10%、磷酸氢钙 0.6%、石粉 0.4%、预混料 0.4%、基础饲料 52.2%。总胆固醇(TC,批号:GS101Z)、甘油三酯(TG,批号:GS111Z)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-c,批号:GS131Z/S)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-c,批号:GS141Z/S)检测试剂盒,均购自北京九强生物公司;总 RNA 提取试剂(批号:9767)、cDNA 反转录试剂盒(批号:RR036A)、SYBR 扩增试剂(批号:RR420A),均购自北京宝日生物技术有限公司;ABCG5 兔多克隆抗体(批号:27722-1-AP)、GAPDH 兔多克隆抗体(批号:10494-1-AP)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;蛋白预染 Marker(批号:26616)、BCA 蛋白定量试剂盒(批号:23225)、WB 显影 AB 液(批号:WP20005),均购自美国 Thermo Scientific 公司;ABCG8 兔多克隆抗体,北京博奥森生物技术有限公司,批号:bs-10149R;NPC1L1 兔多克隆抗体,美国 Novus 公司,批号:NB400-128SS;PVDF 膜,美国 Milipore 公司,批号:ISEQ00010;全蛋白提取试剂盒,北京索莱宝科技有限公司,批号:BC3710;多聚甲醛溶液,北京雷根生物技术有限公司,批号:DF0135。

1.3 仪器 A16 型全自动生化分析仪,南京博泰生物科技有限公司;AL104 型电子天平,上海梅特勒-托利多国际贸易有限公司;KD-RS2 型脱水机、KD-RS3 型包埋机、KD-2358 型切片机,金华市科迪仪器有限公司;LX-500 型八联管离心机,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;NANODrop 2000 型 RNA 浓度测定仪、1510 型酶标仪,美国 Thermo Scientific 公司;20R 型高速离心机,美国 Beckman 公司;CFX96 型 PCR 扩增仪、552BR 型电泳槽、164-5050 型基础电泳仪、GelDoc XR+型凝胶成像仪,美国 Bio-Rad 公司。

1.4 分组、模型复制及给药 大鼠适应性喂养 5 d 后,按照体质量随机分为 5 组,即正常组、模型组、阳性药组(阿托伐他汀钙片,5 mg·kg⁻¹)和黄芪葛根汤低、高剂量组(5、10 g·kg⁻¹),每组 10 只。中药给药剂量参考本课题组前期相关研究^[6]选定,黄芪葛根汤低、高剂量相当于成人临床剂量的 1 倍和 2 倍。正常组给予基础饲料喂养,其余各组采用高脂饲料喂养,制备高脂血症大鼠模型。模型复制的同

时按照上述剂量灌胃给药,正常组和模型组给予等量生理盐水灌胃,每日 1 次,连续给药 20 d。

1.5 样本采集、处理 给药结束后,所有大鼠采用腹腔注射 0.3%戊巴比妥(1.6 mL·kg⁻¹)麻醉,采集大鼠眼眶静脉血,血样均以 4 ℃、2 000×g 离心 10 min,吸取并分装血清,于-80 ℃保存。采血后脱颈椎处死大鼠,摘取完整肝脏,用相机拍照记录;肝脏用生理盐水洗净后,剪取一部分用 4%多聚甲醛固定;另外剪取一部分小肠组织,保存于-80 ℃。

1.6 体质量、摄食量及血脂检测 每天记录大鼠体质量、摄食量,按照试剂盒说明书检测大鼠血清 TG、TC、LDL-c 和 HDL-c 水平。

1.7 肝脏组织 HE 及油红染色 取浸泡于 4%中性多聚甲醛固定的肝脏组织,用蒸馏水洗涤后,放入 70%乙醇中过夜。经脱水、透明、石蜡包埋、切片和封片后,进行 HE 染色。取肝脏组织进行 OCT 包埋、冰冻切片,进行油红染色。光学显微镜下检查各组大鼠肝脏组织病理变化情况。

1.8 Western Blot 法测定小肠组织 NPC1L1、ABCG5 及 ABCG8 蛋白表达水平 取出小肠组织,称定质量,加入含有 PMSF 的 RIPA 裂解液,并加入 1%磷酸酶抑制剂;置于冰上匀浆后,以 4 ℃、11 000×g 离心 30 min,上清液采用 BCA 法进行蛋白定量。加上样缓冲液制备样品,上样量 50 μg 蛋白,组内样品按等量蛋白混匀后上样。以 10%的 SDS-PAGE 凝胶电泳,再转移至 PVDF 膜上,用含 5%脱脂牛奶的 TBST 室温封闭 3 h。与制备好的一抗孵育,按照说明书比例稀释抗体(NPC1L1, 1:500;ABCG5, 1:750;ABCG8, 1:500;GAPDH, 1:20 000),4 ℃孵育一抗过夜, TBST 冲洗掉一抗。加入二抗(1:4 000),室温孵育 1 h, TBST 冲洗后,采用 ECL 化学发光显影。采用 ImageJ 软件进行图像分析,以 GAPDH 为内参,对目的蛋白进行半定量分析。

1.9 qPCR 法测定小肠组织 NPC1L1、ABCG5 及 ABCG8 mRNA 表达水平 采用总 RNA 提取试剂提取小肠组织总 RNA,检测 RNA 含量和纯度(A₂₆₀/A₂₈₀=1.8~2.0)。使用 cDNA 反转录试剂盒进行逆转录反应,反应条件为:37 ℃ 15 min,85 ℃ 5 s,4 ℃ 保持。然后进行 PCR 扩增反应,反应体系为 20 μL,反应条件:95 ℃ 30 s,95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s,共 40 个循环,扩增反应后进行熔解曲线分析。以 β-actin 作为内参基因,采用 2^{-ΔΔC_t}法计算目的基因的相对表达量,空白组基因表达量设为 1,重复试验 3 次。引物购自捷瑞(中国上海)生物公司,引物序列

见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for qPCR

物种	基因名称	Forward primer(5'→3')	Reverse primer(5'→3')
大鼠	NPC1L1	ACGAAGAGTGCGGGAAAA	CAGATGCGCTGGAGAAGA
大鼠	ABCG5	TCGTCACCATCCACCAG	GAAGCCGAGCATCTCCT
大鼠	ABCG8	GCTTCACCGCTCACAAC	ACGTCATCAGAAGGACCAG
大鼠	β-actin	GAGACCTTCAACACCCACG	CACAGAGTACTTGCCTCAG

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±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。进行正态性及方差齐性检验, 若满足正态性及方差齐性则多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 两两比较采用 LSD 检验, 否则采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芪葛根汤对高脂血症大鼠体质量、摄食量的影响 结果见表 2。与正常组比较, 模型组大鼠体质量无明显升高, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组比较, 给药组大鼠体质量均无明显降低, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠摄食量的差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果表明, 高脂饲料喂养 20 d 并未能造成大鼠肥胖模型, 黄芪葛根汤对高脂血症大鼠体质量和摄食量无明显影响。

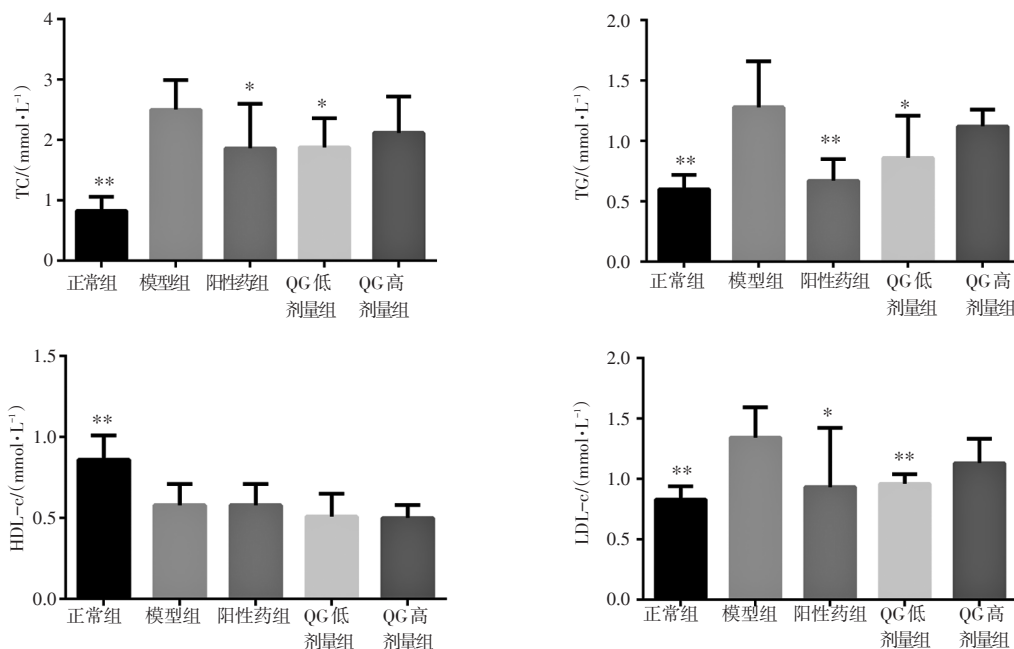
表 2 黄芪葛根汤对高脂血症大鼠体质量、摄食量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 The effect of *Huangqi Gegen* decoction on the body mass and food intake of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g	摄食量/(g,n=5)
正常组	-	325.72 ± 20.72	105.95 ± 11.73
模型组	-	331.83 ± 20.33	104.14 ± 13.00
阳性药组	5 mg·kg ⁻¹	330.74 ± 22.99	99.81 ± 14.76
黄芪葛根汤低剂量组	5	326.72 ± 21.71	102.32 ± 10.26
黄芪葛根汤高剂量组	10	326.64 ± 21.33	102.78 ± 6.36

2.2 黄芪葛根汤对高脂血症大鼠血脂的影响 结果见图 1。与正常组比较, 模型组大鼠血清 TC、TG 和 LDL-c 水平均明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 血清 HDL-c 水平明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 阳性药组和黄芪葛根汤低剂量组的血清 TC、TG 和 LDL-c 水平明显降低, 差异均有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$); 黄芪葛根汤高剂量组大鼠血清 TC、TG 和 LDL-c 水平有所降低, 但差异均无统计学意义($P > 0.05$); 各给药组大鼠血清 HDL-c 水平均无明显升高, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结果表明, 黄芪葛根汤能够改善高脂血症大鼠血清的脂质代谢。

2.3 黄芪葛根汤对高脂血症大鼠肝脏外观及组织病理学的影响 结果见图 2~图 4。正常组大鼠肝脏外观颜色鲜红, 无肝细胞脂肪变性和脂滴积聚。与



注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 1 黄芪葛根汤(QG)对高脂血症大鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Figure 1 The effect of *Huangqi Gegen* decoction on serum lipid of hyperlipidemia rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

正常组比较, 模型组大鼠肝脏呈土黄色, 肝细胞脂肪变性和脂滴积聚明显增多。与模型组比较, 各给药组肝组织外观红润, 均能不同程度地降低肝细胞脂肪变性程度和减少脂滴积聚, 其中黄芪葛根汤低

剂量组和阳性药组改善效果较为明显。结果表明, 黄芪葛根汤能够明显降低高脂血症大鼠的肝细胞脂肪变性程度和减少肝细胞脂滴积聚。



图 2 黄芪葛根汤(QG)对高脂血症大鼠肝脏外观的影响

Figure 2 The effect of *Huangqi Gegen* decoction on liver tissue appearance of hyperlipidemia rats

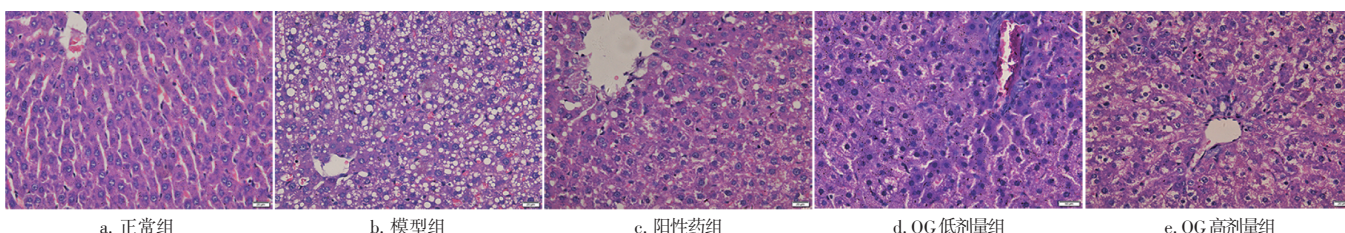


图 3 黄芪葛根汤(QG)对高脂血症大鼠肝脏组织病理变化的影响(HE 染色, ×400)

Figure 3 The effect of *Huangqi Gegen* decoction on liver tissue histopathology of hyperlipidemia rats(HE staining, ×400)

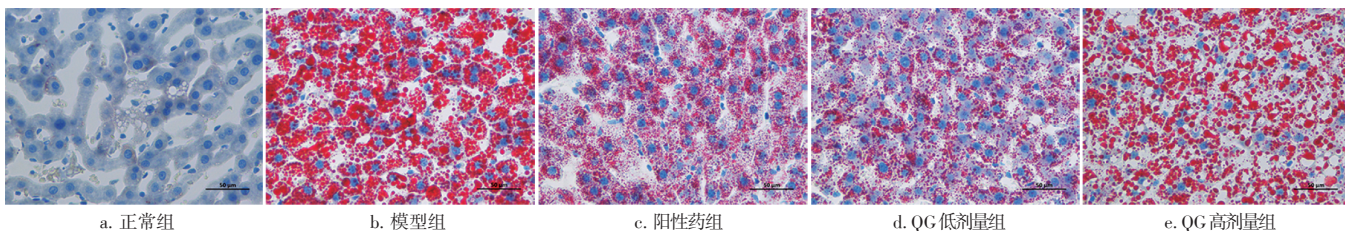
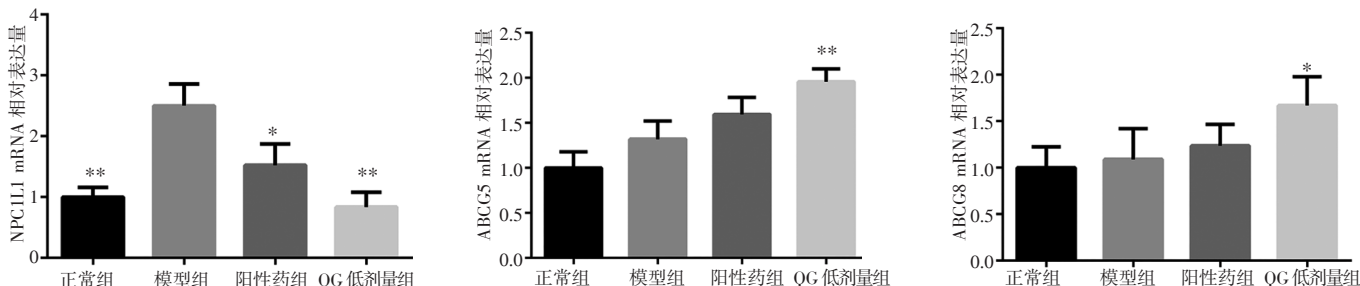


图 4 黄芪葛根汤(QG)对高脂血症大鼠肝脏组织病理变化的影响(油红染色, ×400)

Figure 4 The effect of *Huangqi Gegen* decoction on liver tissue histopathology of hyperlipidemia rats(Oil red staining, ×400)

2.4 黄芪葛根汤对高脂血症大鼠小肠组织 NPC1L1、ABCG5/G8 mRNA 表达水平的影响 结果见图 5。与正常组比较, 模型组大鼠的小肠组织 NPC1L1 mRNA 表达水平明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$), ABCG5/G8 mRNA 表达水平无明显改变, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组比较, 黄芪葛根汤低剂量组和阳性药组大鼠的小肠组织

NPC1L1 mRNA 表达水平明显降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); 黄芪葛根汤低剂量组小肠组织 ABCG5/G8 mRNA 表达水平明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果表明, 黄芪葛根汤能下调高脂血症大鼠小肠组织 NPC1L1 mRNA 表达, 并上调小肠组织 ABCG5/G8 mRNA 的表达。



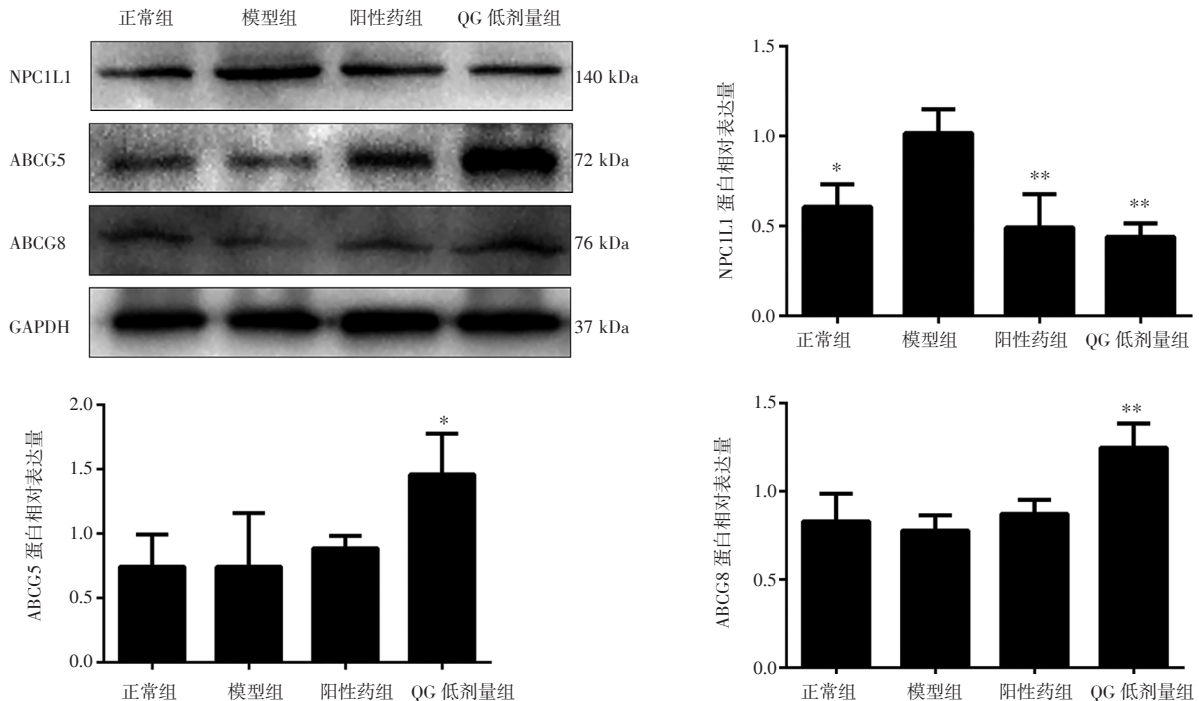
注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 5 黄芪葛根汤(QG)对高脂血症大鼠小肠组织 NPC1L1、ABCG5/G8 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 5 The effect of *Huangqi Gegen* decoction on expression of NPC1L1, ABCG5 and ABCG8 mRNA in small intestine tissue of hyperlipidemia rats($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.5 黄芪葛根汤对高脂血症大鼠小肠组织 NPC1L1、ABCG5/G8 蛋白表达水平的影响 结果见图 6。与正常组比较,模型组大鼠小肠组织 NPC1L1 蛋白表达水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$), ABCG5/G8 蛋白表达水平无明显改变,差异均无统计学意义($P>0.05$)。与模型组比较,黄芪葛根汤低剂量组和阳性药

组大鼠小肠组织 NPC1L1 蛋白表达水平明显降低,差异均有统计学意义($P<0.01$);黄芪葛根汤低剂量组大鼠小肠组织 ABCG5/G8 蛋白表达水平明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。结果表明,黄芪葛根汤能够下调高脂血症大鼠小肠组织 NPC1L1 蛋白表达,并上调小肠组织 ABCG5/G8 蛋白表达。



注:与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

图 6 黄芪葛根汤(QG)对高脂血症大鼠小肠组织 NPC1L1、ABCG5 和 ABCG8 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 6 The effect of *Huangqi Gegen* decoction on expression of NPC1L1, ABCG5 and ABCG8 proteins in small intestine tissue of hyperlipidemia rats($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3 讨论

高脂血症对机体的影响是呈隐蔽性、渐进性、全身性的,是各种心脑血管疾病的危险因素,如脑卒中、冠心病、心肌梗死等^[12]。据统计^[13],在全球范围内心血管疾病的死亡人数逐年增多,已从 2005 年的 1 750 万增长到 2018 年的 2 075 万,而肥胖、高脂饮食是导致高脂血症患病率不断升高的重要因素。

中医认为高脂血症的病因在于肝、脾、肾三脏功能失调,加之饮食不节、嗜食肥甘厚味、过逸少劳等因素而影响脏腑功能,致使气血津液运行失调,脂质代谢紊乱,形成痰凝、湿浊、瘀血等,临床常以燥湿祛痰、行气活血、滋补肝肾以及健脾益肾等法进行治疗^[14]。临床观察发现,高脂血症患者多以脘痞腹胀、倦怠乏力、肥胖懒言为主要症状,故较多学者认为高脂血症以脾虚湿盛为主要病因^[15]。《黄帝内经》云:“惟脾土虚湿,清者难升,浊者难降,留中滞膈,痰而成痰,故治痰先补脾,脾复健运之

常,而痰自化矣”,治疗高脂血症当以健脾祛湿、升清化浊为关键治法^[16]。黄芪葛根汤包含黄芪、葛根及陈皮 3 味药,方中黄芪味甘,性微温,能补脾益气而升清阳;葛根味甘辛,性平,有升清阳、生津液之功;陈皮味苦、辛,性温,能燥湿化痰、理气健脾,三药合用共奏健脾益气、升清化浊、燥湿祛痰之效,有明显调节血脂的作用。

生物体拥有一整套完备的机制来维持体内胆固醇的平衡,主要从胆固醇的合成、吸收、转化和排泄等几方面来调控,胆固醇的吸收和排泄主要在小肠中进行^[2]。胆固醇吸收的效率取决于穿过肠上皮细胞刷状边界膜的胆固醇分子间流入和流出的净效应^[17],NPC1L1 作为甾醇流入转运体和 ABCG5、ABCG8 作为甾醇流出转运体,共同调控胆固醇在肠道中的动态平衡^[18]。研究^[2]表明,肝脏能够将胆固醇排出进入小肠肠腔,而位于小肠黏膜刷状缘的 NPC1L1 蛋白通过囊泡运输的方式将游离胆固醇运送到小肠细胞内

进行吸收。当 NPC1L1 敲除后,小鼠的胆固醇吸收率可降低 90%以上,例如临床降脂药物依泽替米贝能通过抑制 NPC1L1 的表达从而抑制胆固醇的吸收,故抑制 NPC1L1 表达是治疗高脂血症的重要手段^[19-20]。此外,胆汁排泄是胆固醇清除的一个重要过程,发生在肝脏和肠道中,在这个过程中,ABCG5 和 ABCG8 在内质网中形成异二聚体,并移动到顶膜,在那里它们将中性甾醇泵入肠腔以防止甾醇的积累^[21]。有研究^[22]发现,在小鼠进行 ABCG5 和 ABCG8 的过表达后,可引起胆汁胆固醇水平升高 5 倍以上,机体胆固醇得到有效排出。另有研究^[23-24]表明,ABCG5 和 ABCG8 形成的复合物能通过直接对抗 NPC1L1 的作用来限制肠内甾醇的吸收,负责将小肠吸收细胞中多余的胆固醇排出到肠腔,转化为粪便后排出体外。故促进 ABCG5 和 ABCG8 的表达能够增加胆固醇的排出,降低机体胆固醇水平。本研究发现,黄芪葛根汤能下调高脂血症大鼠小肠组织的 NPC1L1 mRNA 及蛋白表达水平,上调小肠组织 ABCG5、ABCG8 mRNA 及蛋白表达水平,提示黄芪葛根汤可能通过抑制胆固醇的吸收和促进胆固醇的排泄,从而发挥调节血脂的作用。

本研究中发现,相比于黄芪葛根汤低剂量组,黄芪葛根汤高剂量组的降脂效果并不明显,剂量增加后疗效反而出现降低趋势。这可能是由于药物在肠道吸收过程中,受药物摄入和自身储存水平的调节,过量补充药物或自身储存可能导致药物吸收率下降,引起药物疗效的降低^[25],故未对该组样品进行蛋白和基因检测。

综上所述,黄芪葛根汤对高脂血症大鼠具有明显的调节血脂作用,能降低高脂血症导致的肝细胞脂肪变性程度和减少肝细胞脂滴积聚,其作用机制可能与下调小肠组织 NPC1L1 的表达以抑制胆固醇的吸收,同时上调小肠组织 ABCG5 及 ABCG8 的表达而增加胆固醇的排泄有关。

参考文献:

[1] 胡大一,郭晓蕙,廖玉华,等.血脂异常老年人使用他汀类药物中国专家共识[J].中华内科杂志,2015,54(5):467-477.
 [2] ALTMANN S W, DAVIS H R, ZHU L J, et al. Niemann-pick c1 like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption[J]. Science(New York, NY), 2004, 303(5661): 1201-1204.
 [3] LEE M H, LU K, HAZARD S, et al. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption [J]. Nature Genetics, 2001, 27(1): 79-83.
 [4] 林静瑜,黄可儿,秦书敏,等.黄芪-葛根药对保护吡啶美辛诱导的大鼠胃黏膜损伤的作用研究[J].中药新药与临床药理,2017,28(1):32-35.
 [5] 来慧丽,林静瑜,桂雪虹,等.正交试验优选黄芪葛根汤保护胃黏膜的水煎工艺[J].中药新药与临床药理,2015,26(1):117-120.

[6] PENG C, ZHOU Z M, LI J, et al.CCl4-induced liver injury was ameliorated by Qi-Ge decoction through the antioxidant pathway[J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM, 2019, 2019: e5941263.
 [7] 朱恬. 芪葛颗粒对酒精性肝损伤的保护作用及代谢组学研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
 [8] BUNBUPHA S, PAKDEECHOTE P, MANESAI P, et al.Nobiletin alleviates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease by modulating adipor1 and gp91 (phox) expression in rats[J]. J Nutr Biochem, 2021, 87: e108526.
 [9] LIU C M, MA J Q, SUN Y Z. Protective role of puerarin on lead-induced alterations of the hepatic glutathione antioxidant system and hyperlipidemia in rats[J]. Food Chem Toxicol, 2011, 49(12): 3119-3127.
 [10] XIONG H, WANG J, RAN Q, et al. Hesperidin: a therapeutic agent for obesity[J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 3855-3866.
 [11] 彭冲. 基于代谢组学结合网络药理学的黄芪葛根汤降脂机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2020.
 [12] TIETGE U J. Hyperlipidemia and cardiovascular disease: inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis[J]. Curr Opin Lipidol, 2014, 25(1): 94-95.
 [13] NAVAR-BOGGAN A M, PETERSON E D, D'AGOSTINO R B, et al.Hyperlipidemia in early adulthood increases long-term risk of coronary heart disease[J]. Circulation, 2015, 131(5): 451-458.
 [14] 张学智. 血脂异常中医诊疗标准(初稿)[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(8): 716-719.
 [15] 田原,潘琳琳,刘桂荣. 中医治疗高脂血症综述[J]. 河南中医, 2018, 38(9): 1450-1454.
 [16] 周佳,陈娇,韦双双. 从脾论治高脂血症[J]. 长春中医药大学学报, 2016, 32(2): 309-312.
 [17] WANG H H, GARRUTI G, LIU M, et al. Cholesterol and lipoprotein metabolism and atherosclerosis: recent advances in reverse cholesterol transport[J]. Annals of Hepatology, 2017, 16(Suppl 1): 27-42.
 [18] GE L, WANG J, QI W, et al. The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1[J]. Cell Metabolism, 2008, 7(6): 508-519.
 [19] DAVIES J P, LEVY B, IOANNOU Y A. Evidence for a niemann-pick c (npc) gene family: identification and characterization of NPC1L1[J]. Genomics, 2000, 65(2): 137-145.
 [20] TEMEL R E, TANG W, MA Y, et al. Hepatic niemann-pick c1-like 1 regulates biliary cholesterol concentration and is a target of ezetimibe[J]. J Clin Invest, 2007, 117(7): 1968-1978.
 [21] WANG J, MITSCHE M A, LÜTJOHANN D, et al. Relative roles of ABCG5/ABCG8 in liver and intestine[J]. J Lipid Res, 2015, 56(2): 319-330.
 [22] YU L, LI-HAWKINS J, HAMMER R E, et al. Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol[J]. J Clin Invest, 2002, 110(5): 671-680.
 [23] BROWN J M, YU L. Opposing gatekeepers of apical sterol transport: niemann-pick c1-like 1 (NPC1L1) and ATP-binding cassette transporters G5 and G8 (ABCG5/ABCG8) [J]. Immunol Endocr Metab Agents Med Chem, 2009, 9(1): 18-29.
 [24] DIKKERS A, TIETGE U J. Biliary cholesterol secretion: more than a simple ABC[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(47): 5936-5945.
 [25] 周朋辉,张静姝,王晓军,等. 核黄素对高脂血症大鼠血脂水平的影响[J]. 中国慢性病预防与控制, 2014, 22(6): 662-664.

(编辑: 邹元平)