

- [15] 李玲, 魏科, 卢芳国, 等. 基于TLR4-MyD88-TRAF6信号通路的麻杏石甘汤抗A型流感病毒感染小鼠所致的病毒性肺损伤研究[J]. 中草药, 2017, 48(8): 1591-1596.
- [16] Wang J Q, Jeelall Y S, Ferguson L L, et al. Toll-like receptors and cancer: MYD88 mutation and inflammation[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 367.
- [17] Xu C Q, Chen G, Yang W W, et al. Hyaluronan ameliorates LPS-induced acute lung injury in mice via Toll-like receptor (TLR) 4-dependent signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(2): 1050-1058.
- [18] 张弦, 庞浩龙, 于旭红. 清肺消炎丸的临床应用评价[J]. 中国医院用药评价与分析, 2013, 13(9): 780-781.
- [19] 程彬峰. 清肺消炎丸抗炎、平喘活性物质筛选及其作用机制研究[D]. 天津: 南开大学, 2013.

黄芪多糖对非酒精性脂肪性肝炎大鼠 ACE2-[Ang-(1-7)]-Mas 轴及胰岛素抵抗的影响

马燕花¹, 邱晓青², 师霞¹, 余臣祖¹

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学附属医院, 甘肃兰州 730020)

摘要: 目的 探讨黄芪多糖对非酒精性脂肪性肝炎大鼠 ACE2-[Ang-(1-7)]-Mas 轴及胰岛素抵抗的影响。方法 40 只大鼠随机分为正常组、模型组、黄芪多糖组 (400 mg/kg)、吡格列酮组 (20 mg/kg), 每组 10 只, 高脂饲料建立非酒精性脂肪性肝炎大鼠模型。给药 4 周后, 测定体质量、肝湿重、血脂、肝功能、血清 Ang (1-7) 水平, 观察肝脏组织病理学变化, RT-PCR、Western blot 检测肝组织 ACE2、Mas、IRS-1 水平。结果 与模型组比较, 黄芪多糖组肝指数及 ALT、AST、TG、TC、MDA 水平显著降低 ($P < 0.01$), Ang-(1-7)、SOD 水平, Mas、ACE2、IRS-1 mRNA 及蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 肝脂肪变性、炎症反应明显减轻。结论 黄芪多糖可有效缓解非酒精性脂肪性肝炎大鼠胰岛素抵抗, 其机制可能与上调 ACE2-[Ang-(1-7)]-Mas 轴基因表达、改善胰岛素敏感性有关。

关键词: 黄芪多糖; 非酒精性脂肪性肝炎; ACE2-[Ang-(1-7)]-Mas 轴; 胰岛素抵抗

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)05-1012-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.05.011

Effects of *Astragali Radix* polysaccharides on ACE2-[Ang-(1-7)]-Mas axis and insulin resistance in non-alcoholic steatohepatitis rats

MA Yan-hua¹, QIU Xiao-qing², SHI Xia¹, YU Chen-zu¹

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. The Hospital Affiliated to Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730020, China)

ABSTRACT: **AIM** To explore the effects of *Astragali Radix* polysaccharides on ACE2-[Ang-(1-7)]-Mas axis and insulin resistance in non-alcoholic steatohepatitis rats. **METHODS** Forty rats were randomly divided into normal group, model group, *Astragali Radix* polysaccharides group (400 mg/kg) and pioglitazone group (20 mg/kg), 10 rats in each group. The rat model for non-alcoholic steatohepatitis was established by high-fat diet. After 4-week administration, body weight, liver wet weight, serum lipid, liver function and serum Ang (1-7) level were detected and liver histopathological changes were observed. ACE2, Mas and IRS-1 levels in liver tissue were detected by RT-PCR and Western blot. **RESULTS** Compared with the model group, the *Astragali Radix* polysaccharides group demonstrated significant decrease in liver index and ALT, AST, TG, TC, MDA levels ($P < 0.01$), marked increase in Ang-(1-7), SOD levels and Mas, ACE2, IRS-1 mRNA, protein expressions ($P < 0.05$, $P <$

收稿日期: 2018-05-08

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目 (81560753); 甘肃省中医药管理局资助项目 (GZK-2015-31); 甘肃省高等学校科研项目 (2017A-057)

作者简介: 马燕花 (1976—), 女, 博士, 副教授, 从事中西医肝病研究。Tel: 13893411954, E-mail: 617747928@qq.com

0.01), as well as obvious reduction in liver fatty degeneration and inflammatory reactions. **CONCLUSION** *Astragali Radix* polysaccharides can effectively alleviate insulin resistance in non-alcoholic steatohepatitis rats, whose mechanisms may contribute to the up-regulation of ACE2-[Ang-(1-7)]-Mas axis gene expression and improvement of insulin sensitivity.

KEY WORDS: *Astragali Radix* polysaccharides; non-alcoholic steatohepatitis; ACE2-[Ang-(1-7)]-Mas axis; insulin resistance

非酒精性脂肪性肝病是一种与胰岛素抵抗和遗传易感性密切相关的代谢应激性肝脏损伤, 疾病谱包括非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎及其相关肝硬化和肝细胞癌^[1-2], 该疾病由于可进展为肝纤维化、肝硬化甚至肝癌等终末期肝病, 一直备受重视。研究表明, 非酒精性脂肪性肝病小鼠有明显的胰岛素抵抗^[3], 其所致肝细胞内甘油三脂蓄积被认为是重要致病因素。胰岛素受体底物-1 (IRS-1) 是胰岛素信号转导途径中的重要因子, 在胰岛素抵抗中起到重要作用^[4]。

肾素血管紧张素系统 (RAS) 存在对立、统一的2条轴: 血管紧张素转换酶 (ACE) -血管紧张素 II (1-8) [Ang II (1-8)] -血管紧张素 II 1型受体 (AT1) 轴、血管紧张素转换酶 2 (ACE2) -血管紧张素 (1-7) [Ang-(1-7)] -[Ang-(1-7)] 受体 (MAS) 轴^[5]。研究表明^[6-8], Ang II 参与并促进胰岛素抵抗发生, 而 ACE2-Ang-(1-7)-Mas 轴作为 RAS 的一个负调节轴, 对胰岛素抵抗的发生有抑制作用^[9]。本实验用黄芪多糖对非酒精性脂肪性肝炎大鼠进行干预, 探讨其对 ACE2-Ang-(1-7)-Mas 轴及胰岛素抵抗的影响, 进一步阐明该成分的分子生物学机制, 为相关临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 体质量 180~220 g, 由中国农业科学院兰州兽医研究所提供, 许可证号 SCXK (甘) 2015-0001, 动物饲养于甘肃中医药大学实验动物中心, 室内温度 (22±2)℃左右, 相对湿度 50%~60%左右, 12 h 光照维持, 昼夜循环, 适应性喂养 1 周, 自由摄食饮水, 普通饲料喂养。本实验遵循甘肃中医药大学实验动物中心实验动物使用管理规定, 并通过甘肃中医药大学动物伦理委员会批准。

1.2 试剂 黄芪多糖购自南京泽朗生物科技有限公司, 含有量 90.11%。盐酸吡格列酮由北京太平洋药业股份有限公司生产, 规格 15 mg, 7 片/盒, 批号 161101, 购自甘肃中医药大学附属医院。高脂

饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供 (普通饲料+15%猪板油+1%胆固醇+10%蛋黄粉+0.2%胆酸钠), 真空包装成 10 kg/袋。丙氨酸氨基转移酶 (ALT, 批号 13352801)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST, 批号 14640501)、总胆固醇 (TC, 批号 13585401)、甘油三酯 (TG, 批号 14854801) 试剂盒均购自德国罗氏公司; MDA (批号 s0131)、SOD (批号 s0101) 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; Ang1-7 ELISA 检测试剂盒 (批号 RA036) 购自上海歌凡生物科技有限公司; DEPC (批号 E174) 购自美国 Amresco 公司; Trizol (批号 9109)、qPCR 反应试剂盒 (批号 RR420 A)、反转录试剂盒 (批号 RR047 A) 购自日本 TakaRa 公司; ECL 发光液、PVDF 膜购自美国 Millipore 公司; 羊抗 IgG 抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司; ACE2 (批号 ab108252)、IRS-1 (批号 ab131487)、MAS (批号 ab200685) 一抗均购自英国 Abcam 公司; β-actin 购自美国 CST 公司。

1.3 仪器 iMark 酶标仪、Western blot 转膜仪、电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); Mx3005P 实时定量 PCR 扩增仪 (美国 Agilent 公司); NanoDrop 2000 超微量分光光度计 (美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 造模及分组 高脂饲料建立非酒精性脂肪性肝炎大鼠模型。大鼠常规喂养 7 d 后, 随机分为正常组 [普通标准饲料 (总热量 15.335 J/g, 碳水化合物占 53%, 脂肪占 9%, 蛋白质占 20%)]、造模组 (高脂饲料), 第 12 周末随机处死造模组大鼠 2 只, 取出肝脏作病理切片, 发现模型建立成功。将造模成功大鼠 (30 只) 随机分为模型组、黄芪多糖组、吡格列酮组^[10], 每组 10 只, 灌胃给药, 其中黄芪多糖组^[11-12]剂量为 400 mg/kg 灌胃, 吡格列酮组剂量为 20 mg/kg, 正常组、模型组为等容量生理盐水, 灌胃体积 1 mL/100 g, 各组大鼠饮食不变, 连续给药 4 周, 1 次/d, 观察大鼠进食、饮水、行为、活动、精神状态、毛发、大小便等情况, 每 1 周记录动物体质量 1 次, 持续至 16

周。然后，大鼠禁食 24 h，次日腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉，下腔静脉取血，3 000 r/min 离心 15 min，分离血清，-20 ℃ 下保存，迅速取出肝脏，称定肝湿重，-80 ℃ 下冷冻保存。

2.2 肝指数检测 实验结束时称定大鼠体质量和肝湿重，肝指数 = (肝湿重/体质量) × 100%。

2.3 血清肝功能、血脂指标检测 全自动生化分析仪检测 ALT、AST、TG、TC 水平，黄嘌呤氧化酶法检测 SOD 水平，硫代巴比妥酸法检测 MAD 水平。

2.4 血清 Ang (1-7) 水平检测 取待测血清 50 μL，加入 ELISA 试剂盒检测孔中，根据说明书进行操作，酶标仪于 450 nm 波长下测定吸光度 (A)，结合标准曲线计算检测血清 Ang (1-7) 水平。

2.5 肝脏组织病理学变化观察 取部分大鼠肝组织，4% 多聚甲醛固定，常规制备组织石蜡切片，HE 染色，光镜下进行观察。

2.6 ACE2、Mas、IRS-1 mRNA 表达检测 采用 RT-PCR 法。取 100 mg 左右大鼠肝组织，Trizol 法提取总 RNA，超微量分光光度计测定样品质量浓度 (ng/μL)，测得 A_{260 nm}/A_{280 nm} 比值在 1.8~2.1 之间，提示 RNA 质量较好，取 1 μg RNA 样品用于合成 cDNA。按照 RT-PCR 试剂盒说明书操作步骤对 ACE2、Mas、IRS-1 进行 PCR 扩增，三者 mRNA 检测所需引物均根据标准 RT-PCR 引物设计原则，由大连宝生物工程有限公司设计并合成 (表 1)。采用两步法 PCR 反应程序 (体积 25 μL)，第一步 95 ℃ 30 s；第二步 95 ℃ 5 s，60 ℃ 30 s，44 个循环，靶基因相对表达量用 2^{-ΔΔCt} 计算。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

基因	引物序列	扩增长度/bp
ACE2	5'-GACAACCTTCTTGACAGCCCATC-3'	290
	5'-ACCATCCACCTCCACTTCTCTA-3'	
Mas	5'-GTGCTCTCCACCAAGACCTG-3'	163
	5'-GGGGACGTCTCCAGTAAAC-3'	
IRS-1	5'-TGTGCCAAGCAACAAGAAAG-3'	176
	5'-ACGGTTTCAGAGCAGAGGAA-3'	
GAPDH	5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTG-3'	258
	5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'	

2.7 ACE2、Mas、IRS-1 蛋白表达检测 采用 Western blot 法。取 20 mg 左右冷冻的大鼠肝脏组织样本，剪碎，加入 RIPA 组织裂解液提取各组肝组织总蛋白，BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白

浓度，取 40 μg 蛋白，10% SDS-PAGE 分离后电转运至 PVDF 膜上，置于 2% 酪蛋白溶液中，室温下振摇 1.5 h，加入兔抗鼠 ACE2、兔抗鼠 Mas，兔抗鼠 β-actin 单抗 (1 : 1 000 稀释)，4 ℃ 下孵育过夜；TBST 洗膜 3 次，加入二抗室温孵育 1 h，加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG (1 : 2 000 稀释)，再洗膜 3 次，加入 ECL 发光液压片显影，扫描摄取图像。然后，用 Quantity one 软件分析条带的灰度值，以 ACE2、Mas、IRS-1 与 β-actin 灰度值的比值表示目的蛋白相对表达量。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 19.0 进行处理，数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 肝指数 表 2 显示，与正常组比较，模型组肝指数显著升高 (P < 0.05)；与模型组比较，黄芪多糖组肝指数均显著下降 (P < 0.01)。

表 2 黄芪多糖对肝指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

Tab. 2 Effects of Astragali Radix polysaccharides on liver indices ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	体质量/g	肝湿重/g	肝指数/%
正常组	287.63 ± 75.82	10.43 ± 2.70	3.64 ± 0.18
模型组	272.20 ± 71.42	11.53 ± 2.89	4.29 ± 0.41 [#]
黄芪多糖组	296.20 ± 66.57	6.87 ± 0.97	2.36 ± 0.23 ^{▲▲}
吡格列酮组	303.90 ± 88.71	7.50 ± 1.92	2.50 ± 0.20 ^{▲▲}

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

3.2 血清指标 表 3 显示，与正常组比较，模型组 ALT、AST、TC、TG、MDA、Ang1-7 水平显著升高 (P < 0.05)，SOD 水平显著降低 (P < 0.01)；与模型组相比，黄芪多糖组 ALT、AST、TC、TG、MDA 水平显著降低 (P < 0.01)，Ang1-7、SOD 水平显著升高 (P < 0.01)。

3.3 肝脏组织病理学变化 图 1 显示，正常组大鼠肝组织肝小叶结构完整，肝索、肝窦分布正常，肝细胞形态一致，未见明显变性坏死，小叶内及汇管区未见明显淋巴细胞浸润；模型组大鼠肝组织肝小叶结构完整，肝索明显增宽，肝窦融合，可见肝细胞弥漫性脂肪变，部分区域汇管区及小叶内少量淋巴细胞浸润；与模型组相比，黄芪多糖组、吡格列酮组大鼠肝组织脂肪变及炎症反应明显减轻，仅少数区域肝细胞内见极少量大小不等脂肪空泡，汇管区及小叶内未见明显淋巴细胞浸润。

3.4 ACE2、Mas、IRS-1 mRNA 表达 表 4 显示，与正常组比较，模型组 ACE2、Mas mRNA 表达显著升高 (P < 0.01)，IRS-1 mRNA 表达显著降低

表3 黄芪多糖对血清指标的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab. 3 Effects of *Astragali Radix* polysaccharides on serum indices ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	SOD/ (U·mL ⁻¹)	MDA/ (μmol·L ⁻¹)	Ang1-7/ (ng·L ⁻¹)
正常组	32.40±2.67	120.80±13.61	1.53±0.27	0.63±0.13	423.76±22.46	11.91±1.54	0.08±0.01
模型组	44.35±10.53 [#]	182.60±70.16 [#]	1.89±0.22 [#]	1.07±0.29 ^{##}	131.00±11.22 ^{##}	30.96±1.19 ^{##}	0.35±0.04 ^{##}
黄芪多糖组	27.91±8.04 ^{▲▲}	115.10±19.33 ^{▲▲}	1.46±0.16 ^{▲▲}	0.34±0.09 ^{▲▲}	328.84±34.45 ^{▲▲}	17.55±2.67 ^{▲▲}	1.30±0.14 ^{▲▲}
吡格列酮组	26.33±7.46 ^{▲▲}	96.55±52.71 ^{▲▲}	1.46±0.31 ^{▲▲}	0.48±0.08 ^{▲▲}	395.89±39.53 ^{▲▲}	16.32±1.51 ^{▲▲}	1.17±0.07 ^{▲▲}

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

表5 黄芪多糖对 ACE2、Mas、IRS-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab. 5 Effects of *Astragali Radix* polysaccharides on ACE2, Mas and IRS-1 protein expressions ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	ACE2	Mas	IRS-1
正常组	0.68±0.09	0.80±0.01	0.97±0.06
模型组	1.30±0.28 ^{##}	0.94±0.09 [#]	0.84±0.03 [#]
黄芪多糖组	1.68±0.12 [▲]	1.09±0.07 [▲]	0.96±0.03 [▲]
吡格列酮组	1.77±0.23 [▲]	1.42±0.03 ^{▲▲}	1.04±0.10 ^{▲▲}

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

底物蛋白 (IRS) 磷酸化,进一步激活 PI3k,并导致蛋白激酶 B (Akt/PKB) 磷酸化而发挥胰岛素生物学效应^[14]。IRS 是 1 种具有胰岛素受体蛋白酪氨酸激酶活性的、结构相似的信号蛋白,主要包括 IRS-1、IRS-2,其中前者表达于肝脏、骨骼肌等组织,是胰岛素信号转导途径中的重要因子,在胰岛素抵抗中起着重要作用^[15]。

ACE2 是 2000 年由 Donoghue^[16]、Tipnis^[17] 研究小组发现的 RAS 家族新成员,其主要生物学作用是水解 Ang I、Ang II,从而产生降解产物 Ang-(1-7),它主要分布在血管、心脏、肾脏、肝脏,与其特异性受体 MAS 结合而发挥生物学作用, Mas 受体由 Mas 原癌基因编码,属于 7 次跨膜的 G 蛋白偶联受体,表达于人类及大鼠心脏、肾脏、肝脏、脂肪组织、睾丸、骨骼肌、视网膜色素上皮等部位,正常肝脏中 ACE2-Ang-(1-7)-Mas、ACE2-Ang II-AT1R 系统均有表达^[18],而当肝脏损伤时两者均表现为表达上调。研究表明,非酒精性脂肪性肝炎大鼠经 Ang II 处理后胰岛素抵抗程度明显加重,而敲除 AT-1 受体或给予 ARB 预处理后明显减轻^[19],Ang II 可通过促进胰岛素受体丝氨酸磷酸化,抑制 IRS-1 酪氨酸磷酸化,从而降低胰岛素敏感性^[20]; ACE2-Ang (1-7)-Mas 系统通过促使 IRS-1 磷酸化来激活 PI3k 信号转导通路,降低血脂、改善胰岛素抵抗^[21-22]。研究表明,Ang-(1-7) 转基因大鼠血脂水平明显降低,胰岛素敏感性

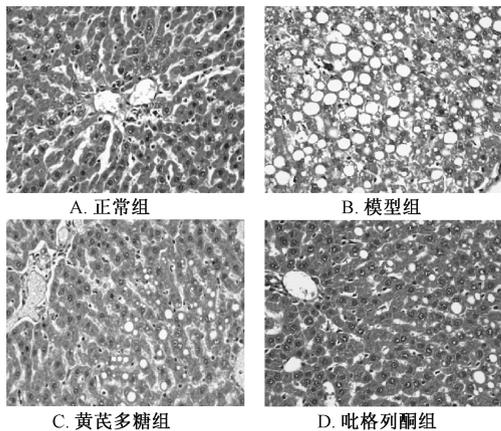


图1 各组大鼠肝脏组织病理学变化 (HE, ×40)

Fig. 1 Liver histopathological changes of rats in various groups (HE, ×40)

($P<0.05$);与模型组比较,黄芪多糖组三者 mRNA 表达显著升高 ($P<0.01$)。

表4 黄芪多糖对 ACE2、Mas、IRS-1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab. 4 Effects of *Astragali Radix* polysaccharides on ACE2, Mas and IRS-1 mRNA expressions ($\bar{x}\pm s, n=10$)

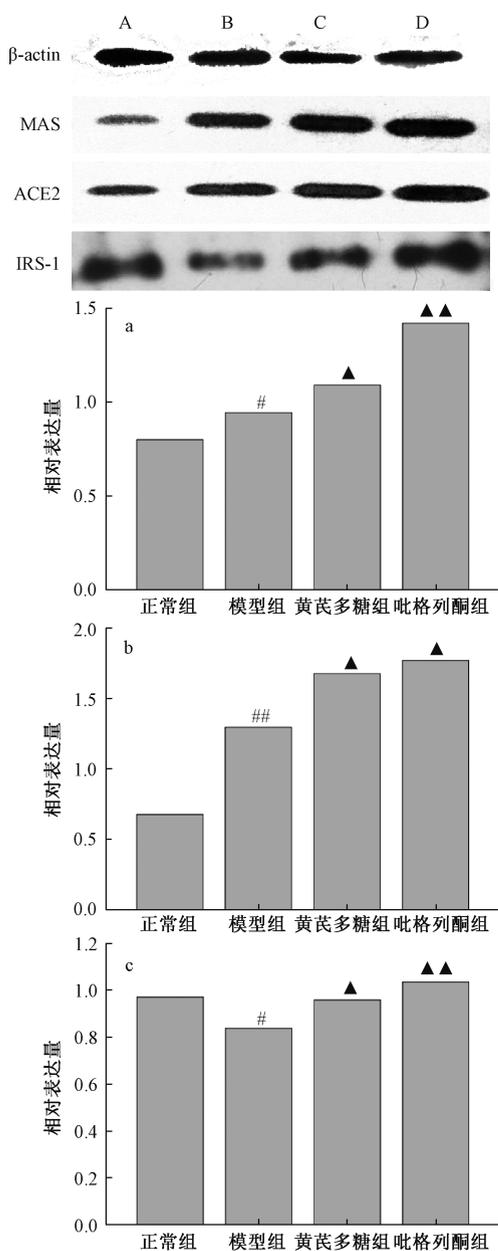
组别	ACE2	Mas	IRS-1
正常组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	2.51±0.47 ^{##}	2.60±0.23 ^{##}	0.6071±0.004 [#]
黄芪多糖组	3.97±0.36 ^{▲▲}	6.12±0.43 ^{▲▲}	6.115±0.155 ^{▲▲}
吡格列酮组	7.96±0.54 ^{▲▲}	6.38±0.49 ^{▲▲}	1.349±0.00848 ^{▲▲}

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

3.5 ACE2、Mas、IRS-1 蛋白表达 表5、图2显示,与正常组比较,模型组 Mas、ACE2 蛋白表达显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), IRS-1 蛋白表达显著降低 ($P<0.05$);与模型组比较,黄芪多糖组三者蛋白表达显著升高 ($P<0.05$)。

4 讨论

非酒精性脂肪性肝炎的发生与胰岛素抵抗密切相关,被认为是代谢综合征的肝脏表现^[13],胰岛素的代谢功能主要通过磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3k) 信号途径实现,它通过与胰岛素受体结合来使后者



注：A~D 分别为正常组、模型组、黄芪多糖组、吡格列酮组。与正常组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，▲ $P < 0.05$ ，▲▲ $P < 0.01$

图2 各组 Mas (a)、ACE2 (b)、IRS-1 (c) 蛋白表达
Fig.2 Mas (a), ACE2 (b) and IRS-1 (c) protein expressions in various groups

增强^[23]，而且 Mas 基因敲除小鼠出现血脂水平升高、胰岛素抵抗^[24-25]。

黄芪作为传统中药材，具有扶正补气之功效，黄芪多糖是其重要的天然有效成分，具有扶正固本、补中益气、化痰祛脂功效^[26]，可降低血脂，增加胰岛素敏感性^[27]，但其具体降脂护肝机制尚不明确。本实验用黄芪多糖对非酒精性脂肪性肝炎大鼠进行治疗，观察其对 ACE2-Ang- (1-7) -Mas

系统及 IRS-1 表达的影响，发现模型大鼠血清转氨酶、血脂、Ang- (1-7) 水平明显升高，肝组织 ACE2、Mas 表达明显增加，IRS-1 表达明显减低，而黄芪多糖干预后大鼠血清转氨酶、血脂明显降低，Ang- (1-7) 水平及 ACE2、Mas、IRS-1 表达模型提高，病理学检查显示，肝组织脂肪变性明显减轻。由此可知，黄芪多糖能显著改善非酒精性脂肪性肝炎大鼠胰岛素抵抗，具有很好的降脂、保肝作用，其机制可能与上调 ACE2、Mas、Ang- (1-7) 水平，进而促进 IRS-1 磷酸化有关。

参考文献：

[1] Haga Y, Kanda T, Sasaki R, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease and hepatic cirrhosis: Comparison with viral hepatitis-associated steatosis [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21 (46): 12989-12995.
 [2] de Alwis N M, Day C P. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears [J]. *J Hepatol*, 2008, 48 (Suppl 1): S104-S112.
 [3] De Minicis S, Agostinelli L, Rychlicki C, *et al.* HCC development is associated to peripheral insulin resistance in a mouse model of NASH [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (5): e97136.
 [4] Kido Y, Nakae J, Accili D. Clinical review 125: The insulin receptor and its cellular targets [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(3): 972-979.
 [5] 寻 英, 秦映芬, 徐梦婕, 等. ACE2-Ang- (1-7) -Mas 轴对糖代谢作用的研究进展 [J]. *广东医学*, 2015, 36 (1): 150-153.
 [6] Henriksen E J. Improvement of insulin sensitivity by antagonism of the renin-angiotensin system [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 293(3): R974-R980.
 [7] Perkins J M, Davis S N. The renin-angiotensin-aldosterone system: a pivotal role in insulin sensitivity and glycemic control [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2008, 15 (2): 147-152.
 [8] Santos S H, Giani J F, Burghi V, *et al.* Oral administration of angiotensin- (1-7) ameliorates type 2 diabetes in rats [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92(3): 255-265.
 [9] Santos S H, Fernandes L R, Mario E G, *et al.* Mas deficiency in FVB/N mice produces marked changes in lipid and glycemic metabolism [J]. *Diabetes*, 2008, 57(2): 340-347.
 [10] 唐纪兰, 文新年, 韦凌云, 等. 吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病患者胰岛素抵抗及内皮功能的影响 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 29(3): 303-304, 307.
 [11] 唐姣玉, 刘兆辉, 杨 海, 等. 黄芪多糖对非酒精性脂肪肝大鼠血脂的影响 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2016(9下): 171-172.
 [12] 计莉强, 姚晓霖, 许广艳. 黄芪多糖对 2 型糖尿病 ZDF 大鼠血糖及肝脏脂代谢影响 [J]. *中国现代医生*, 2017, 55 (27): 30-34, 169.
 [13] Kanwar P, Kowdley K V. The metabolic syndrome and its influ-

- ence on nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Clin Liver Dis*, 2016, 20(2): 225-243.
- [14] Nandipati K C, Subramanian S, Agrawal D K. Protein kinases: mechanisms and downstream targets in inflammation-mediated obesity and insulin resistance [J]. *Mol Cell Biochem*, 2017, 426(1-2): 27-45.
- [15] 唐辰义, 周后德. 胰岛素受体底物家族成员的结构和组织特异性与功能的关系[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(3): 295-302.
- [16] Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9 [J]. *Circu Res*, 2000, 87: e1-e9.
- [17] Tipnis S R, Hooper N M, Hyde R, et al. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(43): 33238-33243.
- [18] Paizis G, Tikellis C, Cooper M E, et al. Chronic liver injury in rats and humans upregulates the novel enzyme angiotensin converting enzyme 2[J]. *Gut*, 2005, 54(12): 1790-1796.
- [19] Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, et al. Losartan, an angiotensin-II type 1 receptor blocker, attenuates the liver fibrosis development of non-alcoholic steatohepatitis in the rat[J]. *BMC Res Notes*, 2009, 2: 70.
- [20] Shimamoto K, Miura T. Metabolic syndrome [J]. *Nihon Rinsho*, 2009, 67(4): 771-776.
- [21] Giani J F, Mayer M A, Muñoz M C, et al. Chronic infusion of angiotensin- (1-7) improves insulin resistance and hypertension induced by a high-fructose diet in rats[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 296(2): E262-E271.
- [22] Giani J F, Gironacci M M, Muoz M C, et al. Angiotensin- (1-7) stimulates the phosphorylation of JAK2, IRS-1 and Akt in rat heart *in vivo*: role of the AT1 and Mas receptors[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(2): H1154-H1163.
- [23] Santos S H, Braga J F, Mario E G, et al. Improved lipid and glucose metabolism in transgenic rats with increased circulating angiotensin- (1-7) [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(5): 953-961.
- [24] Abuissa H, Jones P G, Marso S P, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers for prevention of type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized clinical trials [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(5): 821-826.
- [25] Bataller R, Sancho-Bru P, Ginès P, et al. Liver fibrogenesis: a new role for the renin-angiotensin system[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7(9-10): 1346-1355.
- [26] 刘月涛, 贾璐, 秦雪梅. 多效黄芪物质基础的研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(6): 1476-1480.
- [27] Mao X Q, Yu F, Wang N, et al. Hypoglycemic effect of polysaccharide enriched extract of *Astragalus membranaceus* in diet induced insulin resistant C57BL/6J mice and its potential mechanism[J]. *Phytomedicine*, 2009, 16(5): 416-425.

黄连解毒汤含药血清对 $A\beta_{25-35}$ 诱导 HT22 细胞损伤的影响

张茹兰¹, 黄启辉^{1*}, 黄秀芳², 李建军¹, 陶彦谷²

(1. 中山大学孙逸仙纪念医院, 广东 广州 510300; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510080)

摘要: 目的 探讨黄连解毒汤含药血清对 $A\beta_{25-35}$ 诱导的 HT22 细胞损伤的影响。方法 HT22 细胞随机分为空白组、模型组、多奈哌齐组 (0.9 mg/kg) 及黄连解毒汤低、高剂量组 (2.7、8.1 g/kg), 空白组、模型组加入空白血清, 给药组加入含药血清 1 h 后, 加入 $A\beta_{25-35}$ (40 μ mol/L)。24 h 后, MTT 法检测 HT22 细胞活性, 比色法检测 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 水平, Western blot 检测 Bax、Bcl-2、Cyt C、Caspase-3 蛋白表达。结果 与模型组比较, 黄连解毒汤组 HT22 细胞活性、Bcl-2/Bax 显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), MDA 水平及 Cyt C、Caspase-3 蛋白表达显著降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 并呈剂量依赖性, 其中高剂量组 SOD、GSH-Px 活性也显著升高 ($P<0.01$)。结论 黄连解毒汤含药血清可减轻 $A\beta_{25-35}$ 诱导 HT22 细胞毒性作用, 降低细胞凋亡, 其作用机制可能与减少氧化应激和线粒体凋亡途径有关。

关键词: 黄连解毒汤; 含药血清; $A\beta_{25-35}$; HT22 细胞

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)05-1017-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.05.012

收稿日期: 2018-07-10

基金项目: 广东省自然科学基金自由申请项目 (2014A030313147); 广东省中医药局科研项目 (20171065)

作者简介: 张茹兰 (1992—), 女, 硕士生, 从事中西医结合防治老年病研究。Tel: 18826404829, E-mail: zhangrulan1992@163.com

* 通信作者: 黄启辉 (1964—), 男, 副教授, 从事中西医结合防治老年病研究。Tel: 13710913213