

- 路探究当归芍药散对环磷酰胺诱导的卵巢早衰大鼠卵巢功能的保护作用[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2025, 54(1): 80-85.
- [16] Peng H, Zeng L, Zhu L, et al. Zuogui Pills inhibit mitochondria-dependent apoptosis of follicles in a rat model of premature ovarian failure[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 238: 111855.
- [17] 肖贾丽珏, 李涵, 周锦宏, 等. 基于Akt/mTOR信号通路探讨养精种玉汤对卵巢早衰大鼠的作用[J]. 中成药, 2023, 45(5): 1476-1481.
- [18] Li Z, Qi H, Li Z, et al. Research progress on the premature ovarian failure caused by cisplatin therapy[J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1276310.
- [19] Tao H, Chen Z, Yao B, et al. Galaxamide alleviates cisplatin-induced premature ovarian insufficiency via the PI3K signaling pathway in HeLa tumor-bearing mice[J]. *BMC Cancer*, 2024, 24(1): 1060.
- [20] Hou L, Gu T, Weng K, et al. Effects of oxidative stress on the autophagy and apoptosis of granulosa cells in broody geese[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2154.
- [21] Wu M, Luo Q, Nie R, et al. Potential implications of polyphenols on aging considering oxidative stress, inflammation, autophagy, and gut microbiota[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021, 61(13): 2175-2193.
- [22] Alam F, Syed H, Amjad S, et al. Interplay between oxidative stress, SIRT1, reproductive and metabolic functions[J]. *Curr Res Physiol*, 2021, 4: 119-124.
- [23] Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: impact on the aging process[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 14(2): 3834-3859.
- [24] Shen M, Cao Y, Jiang Y, et al. Melatonin protects mouse granulosa cells against oxidative damage by inhibiting FoxO1-mediated autophagy: Implication of an antioxidation-independent mechanism[J]. *Redox Biol*, 2018, 18: 138-157.

芩藿方对高脂饮食诱导的肥胖小鼠炎症及TLR4/MyD88/NF-κB信号通路的影响

雷耀华¹, 王璟², 刘杉¹, 田嫖¹, 李晓亮¹, 庄馨瑛^{1,2*}

(1. 云南中医药大学中药学院暨云南省南药可持续利用研究重点实验室, 云南昆明 650500; 2. 云南省教育厅云南特色饮片炮制研究重点实验室, 云南昆明 650500)

摘要: 目的 探讨芩藿方对于高脂饮食诱导的肥胖症小鼠的改善作用。方法 采用高脂饲料喂养方法诱导建立肥胖小鼠模型, 将造模成功的小鼠随机分为模型组、奥利司他组(15.6 mg/kg)和芩藿方低、高剂量组(13.5、22.5 g/kg), 另取正常小鼠为对照组, 每组10只, 药物连续干预8周。给药结束后, 检测小鼠体质量、腹围、空腹血糖(FBG)、糖耐量, 并计算口服葡萄糖耐量实验(OGTT)曲线下面积(AUC)、Lee's指数、脂肪指数; 采用血液生化仪检测小鼠血清TC、TG、LDL-C、HDL-C水平; ELISA法检测血清TNF-α、IL-1β、IL-6水平; HE染色观察附睾白色脂肪和肝组织病理变化; RT-qPCR和Western blot法检测肝组织TLR4、MyD88和NF-κB mRNA和蛋白表达。结果 与模型组比较, 萁藿方各剂量组小鼠体质量、腹围、Lee's指数降低($P<0.01$); OGTT-AUC降低($P<0.01$); 内脏脂肪指数降低($P<0.05$, $P<0.01$); 血清TG、TC、IL-6、IL-1β水平降低($P<0.01$); 附睾脂肪细胞直径减小, 排列紧密且规则, 肝组织脂滴空洞减少, 肝细胞形态恢复; TLR4、MyD88、NF-κB mRNA和蛋白表达均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 萁藿方能有效改善肥胖小鼠的糖脂代谢, 减轻炎症, 其机制可能与抑制TLR4/MyD88/NF-κB信号通路有关。

关键词: 萁藿方; 肥胖症; 糖脂代谢; 炎症反应; TLR4/MyD88/NF-κB信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)11-3607-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.011

收稿日期: 2025-01-16

基金项目: 云南省科技厅—云南中医学院应用基础研究联合专项基金(202301AZ070001-057); 云南省南药可持续利用研究重点实验室科技人才和平台计划项目(202105AG070012)

作者简介: 雷耀华(1998—), 男, 硕士生, 研究方向为中药、民族药与天然产物活性及作用机制。E-mail: 1501856912@qq.com

*通信作者: 庄馨瑛(1980—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药、民族药与天然产物活性及作用机制。E-mail: zhuangxinying@aliyun.com

Effects of Qinhuo Formula on inflammation and TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway in obese mice induced by high-fat diet

LEI Yao-hua¹, WANG Jing², LIU Shan¹, TIAN Yuan¹, LI Xiao-liang¹, ZHUANG Xin-ying^{1,2*}

(1. College of Chinese Materia Medica and Yunnan Key Laboratory of Southern Medicinal Utilization, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China; 2. Key Laboratory of Yunnan Provincial Department of Education for Processing Research on Characteristic Prepared Drug in Pieces, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the improvement effect of Qinhuo Formula on obese mice induced by high-fat diet. METHODS Obese mice model was induced by feeding with high-fat diet. The mice successfully established were randomly divided into model group, orlistat group (15.6 mg/kg) and low and high dose groups of Qinhuo Formula (13.5 and 22.5 g/kg), and normal mice were taken as control group, with 10 mice in each group, and the drugs were continuously intervened for 8 weeks. After the drug administration, the body weight, abdominal circumference, fasting blood glucose and glucose tolerance were measured, and area under the curve (AUC) of oral glucose tolerance test (OGTT), Lee's index and fat index were calculated. The serum levels of TC, TG, LDL-C and HDL-C were detected by blood biochemical analyzer. Serum levels of TNF-α, IL-1β and IL-6 were detected by ELISA. HE staining was used to observe the white fat of epididymis and the pathological changes of liver tissue. RT-qPCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expressions of TLR4, MyD88 and NF-κB in liver tissue. RESULTS Compared with the model group, the body weight, abdominal circumference and Lee's index of mice in each dose group of Qinhuo Formula decreased ($P < 0.01$); OGTT-AUC decreased ($P < 0.01$); visceral fat index decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); the levels of serum TG, TC, IL-6 and IL-1β decreased ($P < 0.01$); the diameter of epididymal adipocytes decreased, arranged tightly and regularly, the lipid droplet cavities in liver tissue decreased, and the morphology of hepatocytes recovered; the mRNA and protein expressions of TLR4, MyD88 and NF-κB decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). CONCLUSION Qinhuo Formula can effectively improve glucose-lipid metabolism and reduce inflammation in obese mice, and its mechanism may be related to the inhibition of TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway.

KEY WORDS: Qinhuo Formula; obesity; glucolipid metabolism; inflammatory response; TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway

长期高脂肪饮食是引起肥胖的主要原因之一^[1]。研究显示肥胖常会增加患慢性疾病的风
险^[2],且其特征之一是慢性低度炎症^[3]。肥胖者
脂肪细胞增多,释放炎性细胞因子,干扰脂肪细胞
功能,促进脂肪堆积,加剧肥胖^[4]。Toll 样受体 4
(Toll-like receptor4, TLR4) 是一种重要的炎症受
体,在诱导炎症反应时,主要依赖于受体髓样化分
化因子 88 (myeloid differentiation factor 88,
MyD88) 转导信号,进一步激活下游核因子 κB
(nuclear factor kappa B, NF-κB) 和增强转录活
性^[5-6]。研究表明,TLR4/MyD88/NF-κB 通路是代
谢疾病发生发展的重要信号通路之一,在经典免疫
反应中发挥关键作用^[7]。

中医认为肥胖源于过食膏粱厚味生痰湿,久则

瘀浊内阻、生内热,病机与肝脾功能失调相关,病
位在脾胃^[8-9]。柴胡藿香汤由古方甘露消毒丹化裁
而来,原方清热利湿,化浊解毒,为岐黄学者熊磊
教授用于儿科疫病的常用方剂^[10-11]。根据肥胖的
发生机理调整组方后,形成以广藿香、黄芩、青蒿
和柴胡四味药组成的“芩藿方”。全方偏重芳香化
湿类药材,合用后发挥梳理三焦,理气健脾,调和
肝胆,辟秽化湿,解表里内外湿浊邪气之效。课题
组前期研究发现,芩藿方可改善肥胖小鼠血脂水
平和脂肪沉积,但机制不明。本实验旨在探究芩藿方
对高脂饮食诱导肥胖小鼠脂代谢的调节作用及初步
机制,为深入研究提供依据。

1 材料

1.1 实验动物 SPF 级健康雄性昆明小鼠 50 只,

4~6 周龄, 体质量 (20 ± 3.2) g, 购自斯贝福(北京)生物技术有限公司[实验动物生产许可证号 SCXK(京)2019-0010], 饲养于云南中医药大学动物实验中心[实验动物使用许可证号 SYXK(滇)2022-0004], 室温 (22 ± 2) ℃, 相对湿度 $(55\pm5)\%$, 12 h/12 h 昼夜明暗交替。经云南中医药大学动物实验中心伦理审查合格(动物伦理审查批号 R-062024G144)。

1.2 药物 黄芩(批号 20230618)、广藿香(批号 20230315)、柴胡(批号 20230406) 购自安徽内经阁药业有限公司; 青蒿(批号 20230714) 购自益丰大药房(南京)有限公司, 经云南中医药大学中药鉴定研究室张洁教授鉴定符合 2020 年版《中国药典》标准。将所有饮片置于纯净水中浸泡 1 h, 水蒸气蒸馏法提取广藿香、柴胡挥发油并进行 β -环糊精包合, 药渣另存。黄芩、青蒿煎煮 1 h 获得水煎液, 再加入广藿香、柴胡药渣共煎煮 2 次, 每次 1 h, 合并所有煎液, 浓缩至相对密度 1.06~1.12, 冷冻干燥, 干膏粉过筛(80 目)并与挥发油包合物进行混匀备用。

1.3 试剂 奥利司他(批号 H20148005, 中山万汉制药有限公司); 胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 试剂盒(批号 A111-1-1、A110-1-1、A113-1-1、A112-1-1, 南京建成生物工程研究所); 白细胞介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒(批号 A20640634、A28240725, 杭州联科生物有限公司); IL-1 β ELISA 试剂盒(批号 GR20240710, 武汉基因美科技有限公司); GoScript Reverse Transcription System 逆转录试剂盒、GoTaq qPCR Master Mix 荧光定量染料法预混液(批号 A5001、A6001, 美国 Promega 公司); 兔源 TLR4、MyD88、NF- κ B、GAPDH 一抗、羊抗兔二抗(批号 19811-1-AP、23230-1-AP、10745-1-AP、10494-1-AP、RAGR001, 美国 Proteintech 公司)。

1.4 仪器 高速低温组织研磨仪(型号 KZ-III-F, 武汉赛维尔生物科技有限公司); 台式离心机(型号 AllegraX-22, 美国 Beckman Coulter 公司); 酶标仪(型号 DNM-9602G, 北京普朗新技术有限公司); 多功能 PCR 仪(型号 T960, 成都立德赛科技有限公司); 荧光定量 PCR 仪(型号

Lightcycler96, 瑞士罗氏公司); 凝胶成像仪(型号 ChampGel6000, 北京赛智创业科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 50 只昆明种小鼠适应性饲养 2 周后, 随机分为对照组、模型组、奥利司他组和芩藿方低、高剂量组, 每组 10 只, 除对照组外均采用高脂饲料(24.2% 蛋白质+42.1% 碳水化合物+25.4% 脂肪+5.8% 粗纤维+1.7% 钙+1.1% 磷)饮食诱导, 每周测量小鼠体质量、腹围和脂肪含量变化率。当(造模组小鼠体质量-对照组小鼠体质量) $>$ (对照组小鼠体质量 $\times 20\%$), 则提示造模成功。造模成功后分组给药, 芩藿方低、高剂量组分别灌胃 13.5、22.5 g/kg, 奥利司他组灌胃 15.6 mg/kg, 对照组和模型组均灌胃等量生理盐水, 给药 8 周。

2.2 小鼠体质量、体长、腹围和 Lee's 指数测定 给药 8 周后, 称定小鼠体质量, 精确测量其腹围及体长, 并据此计算 Lee's 指数。

2.3 葡萄糖耐量实验(OGTT) 小鼠禁食不禁水 12 h 以上, 采用剪尾取血法, 用罗氏血糖仪尾尖静脉采血检测空腹血糖(FBG)并记为 BG0。小鼠灌胃 50% 葡萄糖(2 g/kg), 测定 30、60、120 min 血糖值并记为 BG30、BG60、BG120, 绘制 OGTT 时间曲线, 采用近似梯形方法计算曲线下面积(area under curve, AUC)。OGTT-AUC = $0.5 \times (BG0 + BG30) / 2 + 0.5 \times (BG30 + BG60) / 2 + 1 \times (BG60 + BG120) / 2$ 。

2.4 标本采集 小鼠腹腔注射戊巴比妥进行麻醉, 取血, 全血常温静置 1 h, 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清液即血清, 分装后于-80 ℃保存备用。取血后解剖, 分离完整的皮下脂肪、内脏脂肪、棕色脂肪及肝组织, 分装后液氮冷冻, 转移至-80 ℃冰箱保存。计算小鼠的肥胖指数, 公式为肥胖指数=脂肪质量/体质量 $\times 100\%$ 。

2.5 血清脂质水平和炎症因子水平检测 根据试剂盒说明书检测各组小鼠血清 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平。采用 ELISA 法检测各组小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 炎症因子分泌水平。

2.6 HE 染色观察附睾白色脂肪和肝组织形态 用 4% 多聚甲醛固定处理部分新鲜皮下白色脂肪组织(iWAT)和肝组织, 梯度脱水, 石蜡包埋后切片(厚度 3~4 μ m), 脱蜡后根据 HE 试剂盒说明书进行染色, 中性树脂胶封片后, 于显微镜下观察 iWAT 和肝组织病理学形态变化并进行拍照。

2.7 RT-qPCR 法检测肝组织 TLR4、MyD88、NF- κ B mRNA 表达 TRIzol 法提取肝组织总 RNA，根据逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录为 cDNA。PCR 反应体系为 2×RealStar Fast SYBR qPCR Mix 10 μ L，正、反向引物 (10 μ mol/L) 各 0.5 μ L，cDNA 1 μ L，Sterile Water 补足至 20 μ L。扩增条件为 95 °C 预变性 10 min；60 °C 退火 15 s；72 °C 延伸 30 s，进行 40 个循环。得到各基因扩增的 C_t 值，以 GAPDH 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 公式计算各目的基因相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

| 基因 | 引物序列 |
|----------------|---------------------------------|
| TLR4 | 正向 5'-TAGCACAGAAGAGGCAAGGC-3' |
| | 反向 5'-GACCTGACTGGCACTAAC-3' |
| MyD88 | 正向 5'-AAGCAGCAGAACCCAGGACTC-3' |
| | 反向 5'-CGAAAAGTCCGGCGTTGT-3' |
| NF- κ B | 正向 5'-GGACCTATGACCTTCAGACTAC-3' |
| | 反向 5'-TTTCGGGTAGGCACAGCAATAC-3' |
| GAPDH | 正向 5'-GGTTGTCTCCTGCGACTTCA-3' |
| | 反向 5'-TGCTCCAGGGTTCTACTCC-3' |

2.8 Western blot 法检测肝组织 TLR4、MyD88、NF- κ B 蛋白表达 取小鼠肝组织，剪碎后，加入含

表 2 各组小鼠体质量、腹围、体长及 Lee's 指数比较 ($\bar{x}\pm s$, n=10)

| Tab. 2 Comparison of body weight, abdominal circumference, body length and Lee's index of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, n=10) | | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 组别 | 体质量/g | 腹围/cm | 体长/cm | Lee's 指数 |
| 对照组 | 39.08±1.22 | 8.73±0.14 | 11.23±0.16 | 2.98±0.05 |
| 模型组 | 56.80±2.52 ^{##} | 10.81±0.36 ^{##} | 12.37±0.32 ^{##} | 3.20±0.05 ^{##} |
| 奥利司他组 | 49.29±3.89 ^{**} | 9.48±0.26 ^{**} | 12.11±0.26 | 3.04±0.07 ^{**} |
| 芩藿方低剂量组 | 50.69±4.80 ^{**} | 9.83±0.31 ^{**} | 12.29±0.20 | 3.02±0.11 ^{**} |
| 芩藿方高剂量组 | 51.23±3.18 ^{**} | 10.02±0.22 ^{**} | 12.28±0.32 | 3.00±0.06 ^{**} |

注：与对照组比较，^{##}P<0.01；与模型组比较，^{**}P<0.01。

3.2 芩藿方对肥胖小鼠葡萄糖代谢的影响 如表 3 所示，与对照组比较，模型组小鼠 FBG 及 OGTT-AUC 升高 (P<0.05, P<0.01)；与模型组比较，奥利司他组和芩藿方低剂量组小鼠 FBG 及 OGTT-AUC 降低 (P<0.05, P<0.01)，芩藿方高剂量组小鼠 OGTT-AUC 降低 (P<0.01)，表明芩藿方能够有效调节肥胖小鼠血糖水平和糖耐量水平。

3.3 芩藿方对肥胖小鼠脂肪指数的影响 如表 4 所示，与对照组比较，模型组肥胖小鼠皮下和内脏脂肪指数升高 (P<0.05, P<0.01)，棕色脂肪指数无明显变化 (P>0.05)；与模型组比较，奥利司他组及芩藿方各剂量组小鼠内脏脂肪均降低 (P<0.05, P<0.01)，对皮下脂肪和棕色脂肪影响较小，表明芩藿方主要改善肥胖小鼠内脏脂肪沉积。

1 mol/L PMSF 和磷酸酶抑制剂的高效 RIPA 裂解液进行低温匀浆，提取总蛋白。采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度，确定上样体积后，金属浴加热 10 min 使蛋白变性。SDS-PAGE 电泳分离蛋白，转膜，封闭 1 h，分别加入 TLR4、MyD88、NF- κ B 一抗孵育 20 h，TBST 洗膜后加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体二抗孵育 1 h。TBST 洗膜，使用增强 ECL 化学发光试剂检测特异性蛋白信号，采用 Image J 软件测定目的条带灰度值。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 27.0 软件进行处理，实验数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用 LSD-t 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 芩藿方对肥胖小鼠体质量、腹围、体长及 Lee's 指数的影响 如表 2 所示，与对照组比较，模型组小鼠体质量、腹围、Lee's 指数均升高 (P<0.01)；给药 8 周后，与模型组比较，奥利司他组及芩藿方各剂量组小鼠体质量、腹围、Lee's 指数均降低 (P<0.01)，而体长无显著差异 (P>0.05)，表明芩藿方能够改善小鼠的肥胖程度。

表 2 各组小鼠体质量、腹围、体长及 Lee's 指数比较 ($\bar{x}\pm s$, n=10)

| 组别 | FBG/(mmol·L ⁻¹) | OGTT-AUC/(mmol·L ⁻¹ ·h ⁻¹) |
|---------|-----------------------------|---------------------------------------------------|
| 对照组 | 6.25±0.85 | 14.52±1.14 |
| 模型组 | 7.75±1.58 [#] | 21.75±2.95 ^{##} |
| 奥利司他组 | 6.28±0.70 [*] | 14.90±1.50 ^{**} |
| 芩藿方低剂量组 | 6.36±0.66 [*] | 16.92±1.82 ^{**} |
| 芩藿方高剂量组 | 6.72±1.10 | 17.33±3.41 ^{**} |

表 3 各组小鼠 FBG 及 OGTT-AUC 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, n=10)

| Tab. 3 Comparison of FBG and OGTT-AUC levels in mice of each group ($\bar{x}\pm s$, n=10) | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------------|
| 组别 | FBG/(mmol·L ⁻¹) | OGTT-AUC/(mmol·L ⁻¹ ·h ⁻¹) |
| 对照组 | 6.25±0.85 | 14.52±1.14 |
| 模型组 | 7.75±1.58 [#] | 21.75±2.95 ^{##} |
| 奥利司他组 | 6.28±0.70 [*] | 14.90±1.50 ^{**} |
| 芩藿方低剂量组 | 6.36±0.66 [*] | 16.92±1.82 ^{**} |
| 芩藿方高剂量组 | 6.72±1.10 | 17.33±3.41 ^{**} |

注：与对照组比较，[#]P<0.05, ^{##}P<0.01；与模型组比较，^{*}P<0.05, ^{**}P<0.01。

3.4 芩藿方对肥胖小鼠血脂水平的影响 如表 5 所示，与对照组比较，模型组小鼠血清 TG、TC、LDL-C 水平升高 (P<0.01)；与模型组比较，奥利司他组小鼠血清 TG、TC、LDL-C 水平降低

表4 各组小鼠脂肪指数比较 (%， $\bar{x}\pm s$, n=10)Tab. 4 Comparison of adipose indices of mice in each group (%， $\bar{x}\pm s$, n=10)

| 组别 | 白色脂肪 | | 棕色脂肪 |
|---------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | 皮下脂肪 | 内脏脂肪 | |
| 对照组 | 0.654±0.203 | 1.571±0.844 | 0.227±0.054 |
| 模型组 | 1.061±0.457 [#] | 5.985±2.058 ^{##} | 0.236±0.079 |
| 奥利司他组 | 0.864±0.325 | 2.983±1.408 ^{**} | 0.367±0.120 [*] |
| 芩藿方低剂量组 | 0.850±0.279 | 3.276±1.757 ^{**} | 0.290±0.094 |
| 芩藿方高剂量组 | 0.894±0.304 | 3.901±1.261 [*] | 0.294±0.055 |

注：与对照组比较，[#] P<0.05, ^{##} P<0.01；与模型组比较，

* P<0.05, ** P<0.01。

表5 各组小鼠血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平比较 (mmol/L, $\bar{x}\pm s$, n=8)Tab. 5 Comparison of serum TG, TC, LDL-C and HDL-C levels in mice of each group (mmol/L, $\bar{x}\pm s$, n=8)

| 组别 | TG | TC | LDL-C | HDL-C |
|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------|
| 对照组 | 0.426±0.196 | 2.123±0.554 | 1.186±0.367 | 3.454±0.642 |
| 模型组 | 1.198±0.105 ^{##} | 3.966±0.862 ^{##} | 2.207±0.920 ^{##} | 4.157±0.821 |
| 奥利司他组 | 0.763±0.194 ^{**} | 2.922±0.592 ^{**} | 1.808±0.759 [*] | 4.561±1.102 |
| 芩藿方低剂量组 | 0.540±0.077 ^{**} | 2.423±0.392 ^{**} | 2.093±0.571 | 4.220±0.731 |
| 芩藿方高剂量组 | 0.612±0.225 ^{**} | 2.205±0.336 ^{**} | 2.078±0.672 | 4.201±0.827 |

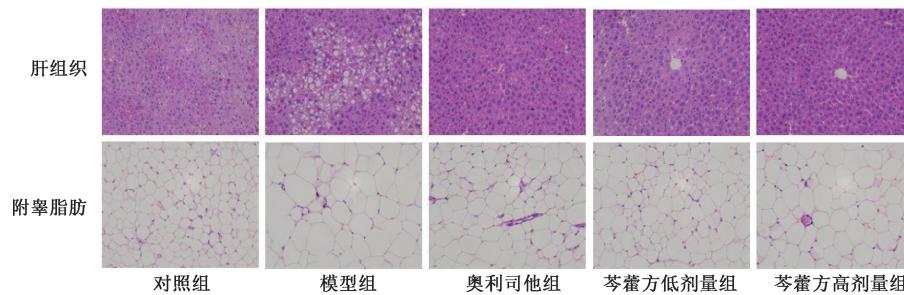
注：与对照组比较，^{##} P<0.01；与模型组比较，* P<0.05, ** P<0.01。

表6 各组小鼠血清 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平比较 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$, n=6)Tab. 6 Comparison of serum TNF-α, IL-6 and IL-1β levels in mice of each group (ng/mL, $\bar{x}\pm s$, n=6)

| 组别 | TNF-α | IL-6 | IL-1β |
|---------|-------------|---------------------------|--------------------------|
| 对照组 | 45.86±8.91 | 28.26±6.75 | 30.80±1.00 |
| 模型组 | 48.95±3.71 | 64.69±23.13 ^{##} | 32.35±1.53 [#] |
| 奥利司他组 | 46.53±10.34 | 33.14±12.07 ^{**} | 25.02±2.21 ^{**} |
| 芩藿方低剂量组 | 41.34±13.86 | 29.62±6.41 ^{**} | 25.88±1.82 ^{**} |
| 芩藿方高剂量组 | 43.55±13.28 | 27.60±5.18 ^{**} | 26.78±2.50 ^{**} |

注：与对照组比较，[#] P<0.05, ^{##} P<0.01；与模型组比较，

* P<0.01。

图1 各组小鼠肝组织和附睾脂肪组织病理变化 (HE染色, $\times 400$)Fig. 1 Pathological changes of liver tissue and epididymal adipose tissue in mice of each group (HE staining, $\times 400$)

3.7 萼藿方对肥胖小鼠肝组织 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达的影响 如表7所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肝组织 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较, 萼藿

($P<0.05$, $P<0.01$), 萼藿方各剂量组小鼠血清 TG、TC 水平降低 ($P<0.01$), LDL-C 水平无明显变化 ($P>0.05$), 表明芩藿方能改善肥胖小鼠脂质代谢紊乱。

3.5 萼藿方对肥胖小鼠血清促炎细胞因子分泌水平的影响 如表6所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清 IL-6、IL-1β 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较, 奥利司他组及芩藿方各剂量组小鼠血清 IL-6、IL-1β 水平降低 ($P<0.01$), TNF-α 水平无明显变化 ($P>0.05$), 提示芩藿方可有效降低炎症细胞因子的分泌。

3.6 萼藿方对肥胖小鼠肝组织和附睾脂肪组织病理变化的影响 如图1所示, 对照组小鼠肝细胞排列整齐, 细胞形态清晰; 模型组小鼠肝细胞胞浆中出现许多大小不等的空洞(脂滴), 肝脏细胞发生脂肪变性, 细胞体积增大, 细胞分布散乱; 萼藿方各剂量组小鼠肝组织脂滴空泡减少, 肝细胞结构与形状正常。与对照组比较, 模型组小鼠附睾脂肪细胞直径变大, 较为松散, 形状不规则; 萼藿方各剂量附睾脂肪组织细胞直径减小, 形状更为规则, 面积减小。以上结果表明, 萼藿方能够有效改善肥胖小鼠的附睾脂肪和肝组织的病理形态。

方各剂量组小鼠肝组织 TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

3.8 萼藿方对肥胖小鼠肝组织 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达的影响 如图2、表8所示, 与对

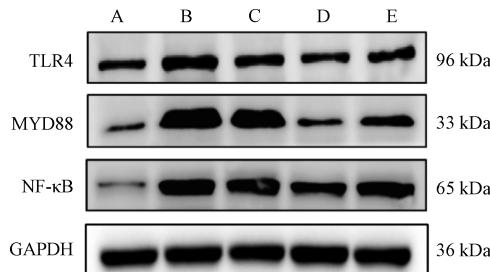
照组比较,模型组小鼠肝组织TLR4、MyD88、NF- κ B蛋白表达升高($P<0.01$);与模型组比较,芩藿方各剂量组小鼠肝组织TLR4、MyD88、NF- κ B蛋白表达降低($P<0.05$, $P<0.01$),奥利司他组小鼠肝组织NF- κ B蛋白表达降低($P<0.05$),TLR4、MyD88蛋白表达无明显变化($P>0.05$)。

表7 各组小鼠肝组织TLR4、MyD88、NF- κ B mRNA表达比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 7 Comparison of mRNA expressions of TLR4, MyD88 and NF- κ B in liver tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

| 组别 | TLR4 | MyD88 | NF- κ B |
|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 对照组 | 1.080±0.445 | 1.043±0.325 | 1.102±0.557 |
| 模型组 | 2.626±0.987 ^{##} | 2.665±0.711 ^{##} | 4.293±0.932 ^{##} |
| 奥利司他组 | 2.098±0.809 | 2.256±0.957 | 4.083±0.873 |
| 芩藿方低剂量组 | 1.156±0.368 ^{**} | 1.981±0.760 [*] | 2.352±0.947 ^{**} |
| 芩藿方高剂量组 | 1.704±0.771 [*] | 2.095±0.802 [*] | 3.368±0.626 [*] |

注:与对照组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,
^{**} $P<0.01$ 。



注:A为对照组,B为模型组,C为奥利司他组,D~E为芩藿方低、高剂量组。

图2 各组小鼠肝组织TLR4、MyD88、NF- κ B蛋白条带图

Fig. 2 Protein bands of TLR4, MyD88 and NF- κ B in liver tissue of mice in each group

表8 各组小鼠肝组织TLR4、MyD88、NF- κ B蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Tab. 8 Comparison of protein expressions of TLR4, MyD88 and NF- κ B in liver tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

| 组别 | TLR4 | MyD88 | NF- κ B |
|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 对照组 | 1.073±0.445 | 1.130±0.325 | 1.020±0.557 |
| 模型组 | 1.902±0.398 ^{##} | 1.796±0.674 ^{##} | 2.528±0.960 ^{##} |
| 奥利司他组 | 1.596±0.340 | 1.674±0.326 | 1.612±0.405 [*] |
| 芩藿方低剂量组 | 1.412±0.499 [*] | 1.170±0.125 [*] | 1.308±0.194 ^{**} |
| 芩藿方高剂量组 | 1.432±0.363 [*] | 1.300±0.327 [*] | 1.372±0.112 ^{**} |

注:与对照组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,
^{**} $P<0.01$ 。

4 讨论

肥胖作为全球性公共卫生问题,其发病率与流行率居高不下^[12]。尽管现有减肥药物有一定效果,

但不良反应问题突出^[13]。相比之下,研究发现多种中医药方剂在改善实验动物肥胖状态方面展现出良好潜力,且安全性更高,但目前尚无成功上市的减肥类中药。

中医认为,肥胖与痰、湿、气虚等密切相关,病机核心为阴阳失衡、气机不畅致痰湿瘀积聚^[14]。元代朱丹溪^[15]指出“肥人多痰湿”,强调了痰湿在肥胖中的重要地位。芩藿方由广藿香、黄芩、青蒿和柴胡组成,藿香芳香化湿^[16],理气和中,其提取物能够降低营养性肥胖大鼠血清TG水平^[17];黄芩清热燥湿,清泄肝胆郁热^[18],其活性成黄芩素具有抑制脂肪积累的作用^[19],黄芩苷可以通过刺激脂肪产热改善饮食诱导的肥胖^[20];柴胡升清降浊,解除肝郁^[21],其皂苷成分兼具肝保护与抗炎作用^[22];青蒿助广藿香宣化湿热^[23],调和诸药,其活性成分蒿甲醚可抑制高脂饮食小鼠下丘脑炎症,改善脂质代谢^[24]。本研究发现,芩藿方干预后,肥胖小鼠体质量、腹围、Lee's指数和脂肪指数均降低,表明其对高脂饮食诱导的肥胖有良好改善作用。高脂饮食破坏了脂质吸收与代谢的平衡,导致脂质代谢紊乱,表现为血清TG、TC、LDL-C水平升高和HDL-C水平降低,模型组结果与之一致。而芩藿方干预可降低肥胖小鼠血清TG、TC、LDL-C水平,有效改善高脂饮食引起的血脂代谢异常。

肥胖不仅是代谢性疾病,更被现代医学揭示为慢性低度炎症性疾病。TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路是炎症反应的核心通路之一。TLR4作为模式识别受体,可识别内源性脂质过载。游离脂肪酸(FFA)过度积累会触发肝细胞脂毒性反应,激活TLR4信号通路。该通路通过与下游的MyD88和TRIF合作,最终激活NF- κ B通路,进而增加炎症因子TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的释放^[25-26]。本研究结果显示,与对照组比较,模型组小鼠血清炎症因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平,肝组织TLR4、MyD88、NF- κ B mRNA及蛋白表达均升高;芩藿方干预可降低上述指标,表明其改善脂代谢紊乱的作用可能与抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路有关。

综上所述,本研究发现芩藿方对高脂饮食诱导肥胖小鼠代谢和炎症具有改善作用,该作用可能与抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路有关。这为芩藿方的后续研究提供了实验基础,也为该组方在肥胖疾病中的应用提供了一定参考。

参考文献:

- [1] Ji T, Fang B, Wu F, et al. Diet change improves obesity and lipid deposition in high-fat diet-induced mice[J]. *Nutrients*, 2023, 15(23): 4978.
- [2] Piché M E, Tchernof A, Després J P. Obesity phenotypes, diabetes, and cardiovascular diseases[J]. *Circ Res*, 2020, 126(11): 1477-1500.
- [3] Kawai T, Autieri M V, Scalia R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2021, 320(3): C375-C391.
- [4] Suren Garg S, Kushwaha K, Dubey R, et al. Association between obesity, inflammation and insulin resistance: insights into signaling pathways and therapeutic interventions[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2023, 200: 110691.
- [5] Asami J, Shimizu T. Structural and functional understanding of the toll-like receptors[J]. *Protein Sci*, 2021, 30(4): 761-772.
- [6] Kim H J, Kim H, Lee J H, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4): new insight immune and aging[J]. *Immun Ageing*, 2023, 20(1): 67.
- [7] Duan T, Du Y, Xing C, et al. Toll-like receptor signaling and its role in cell-mediated immunity[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 812774.
- [8] 喻松仁, 舒晴, 王萍, 等. 肥胖痰湿证形成机制及证治规律探微[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(12): 2547-2548.
- [9] 杜立杰, 杜丽坤, 周海丽. 中医药治疗单纯性肥胖的研究进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(2): 129-131.
- [10] 杨艳, 熊磊. 柴胡藿香汤治疗小儿暑湿发热40例疗效观察[J]. 云南中医中药杂志, 2006, 27(3): 29-30.
- [11] 崔瑾, 曹婷, 侯宾, 等. 熊磊教授应用芳香疗法治疗小儿疫病临床经验[J]. 云南中医药大学学报, 2024, 47(6): 74-77.
- [12] Caballero B. Humans against obesity: who will win? [J]. *Adv Nutr*, 2019, 10(suppl_1): S4-S9.
- [13] Ryan D H. Drugs for treating obesity[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2022, 274: 387-414.
- [14] 李超德, 唐红珍. 从痰湿论治肥胖[J]. 广西医学, 2018, 40(23): 2829-2831.
- [15] 史周莹, 陈积宏, 李慧欣, 等. 朱丹溪辨治肥胖症学术思想探析[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(8): 4406-4409.
- [16] 吴友根, 郭巧生, 郑焕强. 广藿香本草及引种历史考证的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(20): 2114-2117.
- [17] 朱静, 严小军, 孙慧娟, 等. 广藿香对营养性肥胖大鼠的降脂作用的转录组学研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(6): 87-92.
- [18] 钱锦秀, 孟武威, 赵佳琛, 等. 经典名方中黄芩的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(5): 84-93.
- [19] 李恒华, 黄崇刚, 黄文涛, 等. 黄芩素对实验性肥胖大鼠减肥降脂作用的初步研究[J]. 重庆中草药研究, 2017(1): 34-37.
- [20] Li H, Tang S. Baicalin attenuates diet-induced obesity partially through promoting thermogenesis in adipose tissue[J]. *Obes Res Clin Pract*, 2021, 15(5): 485-490.
- [21] 薛亚, 朱为康, 朱海青, 等.《伤寒论》中柴胡的本草应用考证[J]. 上海中医药杂志, 2022, 56(4): 42-45.
- [22] 江继超, 洪洲, 潘光旭, 等. 柴胡皂苷D抑制肝星状细胞活化及PSME3表达的实验研究[J]. 福建中医药, 2024, 55(6): 25-28.
- [23] 张小波, 赵宇平, 黄晓巍, 等. 青蒿道地药材研究综述[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11): 2015-2018.
- [24] Wang Y H, Chen X, Bai Y Z, et al. Palmitoylation of PKCδ by ZDHHC5 in hypothalamic microglia presents as a therapeutic target for fatty liver disease[J]. *Theranostics*, 2024, 14(3): 988-1009.
- [25] Rogero M M, Calder P C. Obesity, inflammation, toll-like receptor 4 and fatty acids[J]. *Nutrients*, 2018, 10(4): 432.
- [26] Zou P F, Shen J J, Li Y, et al. Molecular cloning and functional characterization of TRIF in large yellow croaker Larimichthys crocea[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2019, 91: 108-121.