

## · 基础研究 ·

氧化苦参碱对高脂诱导胰岛素抵抗小鼠  
肝脏脂肪酸氧化的影响王 超<sup>1</sup> 张会欣<sup>2</sup> 邢邯英<sup>1</sup> 王 杏<sup>1</sup> 张 哲<sup>1</sup>

**摘要 目的** 探讨氧化苦参碱对高脂诱导胰岛素抵抗小鼠肝脏脂肪酸氧化的影响。**方法** 72 只 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠高脂喂养 16 周制备胰岛素抵抗模型,随机分为模型组、氧化苦参碱 25、50、100 mg/kg 组,每组 18 只,18 只 C57BL/6J 小鼠设为对照组,氧化苦参碱各剂量组相应氧化苦参碱灌胃 8 周。对照组及模型组给予同体积的纯净水。高胰岛素-正葡萄糖钳夹试验评价胰岛素抵抗程度,测定葡萄糖输注率 (GIR);测定血清和肝脏游离脂肪酸 (FFA) 含量;测定 FBG、TC、TG、FINS 水平,计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR);实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和 Western blot 检测肝组织脂肪酸氧化调控因子 [过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ )、细胞色素 P4502E1 (CYP2E1)、细胞色素 P4504A1 (CYP4A10)]、脂肪酸氧化限速酶 [肉毒碱棕榈酰基转移酶 1 (CPT1)、细胞色素氧化酶 (COX1)、解偶联蛋白 2 (UCP2)] 的表达。**结果** 与对照组比较,模型组小鼠体重、血清 FBG、TC、TG、FINS 水平、HOMA-IR 值、血清和肝脏中 FFA 含量均明显升高 ( $P < 0.05$ ),GIR 明显降低 ( $P < 0.05$ ),PPAR $\alpha$ 、CYP2E1、CYP4A10 及 CPT1 mRNA 和蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ),COX1 及 UCP2 mRNA 和蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,氧化苦参碱 25 mg/kg 组 TC、TG 和 HOMA-IR 值降低 ( $P < 0.05$ ),氧化苦参碱 50 mg/kg 组血清 FBG、TC、TG、FINS 水平和 HOMA-IR 降低 ( $P < 0.05$ ),氧化苦参碱 100 mg/kg 组体重、血清 FBG、TC、TG、FINS 水平和 HOMA-IR 均降低 ( $P < 0.05$ ),氧化苦参碱 50、100 mg/kg 组 GIR 明显升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,氧化苦参碱各剂量组肝脏 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1、CYP4A10 及 CPT1 mRNA 和蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ),COX1 及 UCP2 mRNA 和蛋白表达以及血清和肝脏中 FFA 含量均降低 ( $P < 0.05$ )。**结论** 氧化苦参碱通过调节肝脏 FFA 氧化,改善高脂诱导小鼠的胰岛素抵抗。

**关键词** 氧化苦参碱;高脂饮食;胰岛素抵抗;脂肪酸氧化

Effect of Oxymatrine on Fatty Acid Oxidation in Hepatic of Fat-Induced Insulin Resistance Mice  
WANG Chao<sup>1</sup>, ZHANG Hui-xin<sup>2</sup>, XING Han-ying<sup>1</sup>, WANG Xing<sup>1</sup>, and ZHANG Zhe<sup>1</sup> 1 Key Laboratory of Geriatrics, Hebei General Hospital, Shijiazhuang (050051); 2 Department of Pharmacology, Hebei Yiling Medicine Institute, Shijiazhuang (050035)

**ABSTRACT Objective** To investigate the effects of oxymatrine on fatty acid oxidation in liver of high fat diet induced insulin resistance mice. **Methods** 72 ApoE<sup>-/-</sup> mice fed with high fat diet for 16 weeks to construct insulin resistance model were randomly divided into the model group and Oxymatrine 25, 50, 100 mg/kg groups, 18 in each group. Eighteen C57BL/6J mice were recruited as the control group. Then the mice were administered with appropriate oxymatrine by gastrogavage for 8 weeks in each dose group of oxymatrine, equal volume of pure water to the control and model group. Hyper insulinemic-euglycemic clamp test was used to evaluate insulin resistance of mice, while the glucose infusion rate (GIR) was measured. The levels of free fatty acid (FFA) in the serum and hepatic tissues, FBG, TC, TG and FINS were detected, while the insulin resistance index (HOMA-IR) was calculated. The expression levels of fatty acid oxidation regulators [peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ), cytochrome

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(No. 2012CB518606);河北省重大医学科研项目(No. zd2013002, No. zd2013004)

作者单位:1. 河北省人民医院老年医学重点实验室(石家庄 050051);2. 河北以岭医药研究院药理室(石家庄 050035)

通讯作者:张会欣, Tel: 0311-85901715, E-mail: hxzhang76@sohu.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20170915. 223

P4502E1 (CYP2E1), cytochrome P4504A1 (CYP4A10)], fatty acid oxidation rate-limiting enzyme [carnitine palmitoyl transferase 1 (CPT1), cytochrome oxidase (COX1) and solution uncoupling protein 2 (UCP2)] in liver tissues were examined by Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and Western blot. Results Compared with the control group, the body weight, serum FBG, TC, TG, FINS, HOMA-IR value, serum and liver FFA content increased significantly ( $P < 0.05$ ), while GIR decreased in the model group ( $P < 0.05$ ). The mRNA and protein expression levels of PPAR $\alpha$ , CYP2A1, CYP4A10 and CPT1 decreased ( $P < 0.05$ ), while COX1 and UCP2 increased in the model group ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the levels of TC, TG and HOMA-IR decreased in oxymatrine 25 mg/kg group ( $P < 0.05$ ), while the levels of FBG, TC, TG, FINS and HOMA-IR increased in oxymatrine 50 mg/kg group ( $P < 0.05$ ). The levels of weight, FBG, TC, TG, FINS and HOMA-IR decreased in oxymatrine 100 mg/kg group ( $P < 0.05$ ), while GIR increased in oxymatrine 50 and 100 mg/kg groups ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the mRNA and protein expression levels of PPAR $\alpha$ , CYP2E1, CYP4A10 and CPT1 increased in all oxymatrine groups ( $P < 0.05$ ), COX1 and UCP2 mRNA and protein expression decreased ( $P < 0.05$ ), while the contents of FFA in serum and liver decreased ( $P < 0.05$ ). Conclusion Oxymatrine can regulate the fatty acid oxidation in liver, thus improving high-fat induced insulin resistance in mice.

**KEYWORDS** oxymatrine; high fat diet; insulin resistance; fatty acid oxidation

高脂饮食会引起血中游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 浓度升高, 高浓度的脂肪酸造成组织脂肪酸沉积, 导致了胰岛素抵抗的形成, 因此认为 FFA 可能是胰岛素抵抗的独立危险因素<sup>[1]</sup>。胰岛素抵抗首先表现为脂肪酸代谢异常, 高脂饮食可使胰岛素抵抗中脂肪酸代谢异常, 包括转运、氧化和合成<sup>[2]</sup>。氧化苦参碱具有抗病毒、调血脂、抗氧化等多种功能, 已被开发应用于临床治疗乙肝、脂肪肝<sup>[3]</sup>, 笔者前期研究表明, 氧化苦参碱可改善小鼠胰岛素抵抗<sup>[4]</sup>, 但氧化苦参碱对胰岛素抵抗小鼠肝脏脂肪酸氧化代谢的影响尚不清楚。本实验采用高脂喂养诱导 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠形成胰岛素抵抗, 观察肝脏脂肪酸氧化关键调控因子、氧化限速酶的表达变化以及氧化苦参碱干预作用。

## 材料与方法

1 动物 SPF 级 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠 72 只, C57BL/6J 小鼠 18 只, 均为雄性, 体重 18 ~ 22 g, 购自北京大学医学部, 动物许可证号: SCXK(京)2011-0012。本实验遵循河北以岭医药研究院实验动物使用管理规定, 并通过河北以岭医药研究院伦理委员会批准 (No. N0012)。

2 药物 氧化苦参碱 (苦参素胶囊), 规格: 0.1 g/粒, 购自正大天晴药业股份有限公司 (批号: 131026)。将氧化苦参碱研磨, 用纯水配制成 2.5、5、10 mg/mL 浓度的混悬液。

3 主要试剂与仪器 过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$ , PPAR $\alpha$ ) 兔抗大鼠多克隆抗体 (美国 Abcam 公司, 批号: ab8934); 肉毒碱棕榈酰基转移酶 1

(carnitine palmitoyltransferase 1, CPT1) 兔抗大鼠多克隆抗体 (美国 Abcam 公司, 批号: ab83862); 细胞色素氧化酶 1 (cytochrome oxidase 1, COX1) 山羊抗大鼠多克隆抗体 (美国 Abcam 公司, 批号: ab22720); 解偶联蛋白 2 (uncoupling protein 2, UCP2) 兔抗大鼠多克隆抗体 (美国 Abcam 公司, 批号: ab203244); 细胞色素 P4502E1 (cytochrome P4502E1, CYP2E1) 兔抗大鼠多克隆抗体 (美国 Abcam 公司, 批号: ab28146); 细胞色素 P4504A1 (cytochrome P4504A1, CYP4A10) 兔抗大鼠多克隆抗体 (美国 Abcam 公司, 批号: ab3573); 荧光定量 RT-PCR 试剂盒 (美国 ABI 公司, 批号: AM1005)。全自动生化分析仪 (日立 7080); ABI 7300 Real-time PCR System (美国 ABI 公司); 电泳仪、转膜仪 (上海六一制造厂)。

## 4 方法

4.1 分组和给药 C57BL/6J 小鼠喂养基础饲料 (热量组成: 蛋白质 24.2%, 碳水化合物 65.5%, 脂肪 10.3%), 设为对照组。模型制备参照参考文献 [4]: ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠喂养高脂饲料 (热量组成: 蛋白质 20.1%, 碳水化合物 20.1%, 脂肪 59.8%), 16 周后采用高胰岛素-正葡萄糖钳夹试验测定葡萄糖输注率 (glucose infusion rate, GIR), 模型组与对照组比较, 差异有统计学意义为造模成功<sup>[5]</sup>。按随机数字法分为模型组、氧化苦参碱 25、50、100 mg/kg 组, 为临床人用剂量的 5、10、20 倍, 每组 18 只。氧化苦参碱各剂量组连续灌胃给予 8 周的相应剂量氧化苦参碱, 对照组和模型组给予同体积的纯净水。计算小鼠体重, 实验结束各组取 8 只小鼠测定 GIR, 剩余 10 只小鼠留取血清和肝脏, -80 °C 保存备用。

4.2 生化指标检测 治疗后采用全自动生化分析仪测定小鼠血清血糖(FBG)、TG、TC 和 FFA 的含量。放射免疫法测定血清胰岛素(serum insulin, FINS)含量,计算胰岛素抵抗指数(insulin resistance index, HOMA-IR) = 空腹血糖 × 空腹胰岛素/22.5。比色法测定肝脏组织中游离脂肪酸的含量。

4.3 高胰岛素-正葡萄糖钳夹试验测定 GIR 参照参考文献[6]。小鼠麻醉后,采用 Dow Corning Silastic 铂金硅胶管进行右颈动脉、右颈静脉插管。在小鼠清醒状态下以 4 mIU/(kg · min)输注胰岛素和 30% 葡萄糖溶液,控制 GIR,使 FBG 水平在(5.0 ± 0.5) mmol/L 范围,稳态下测定 GIR 值反映小鼠胰岛素活性。

4.4 qRT-PCR 检测肝脏 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1、CYP4A10、CPT1、COX1、UCP2 mRNA 表达 肝脏,匀浆,提取总 RNA,逆转录,荧光定量 PCR 仪进行基因扩增。引物序列:PPAR $\alpha$  引物:上游:5'-GG-GAAAGACCAGCAACAACC-3',下游:5'-TGGCAG-CAGTGGGAAGAATCG-3',产物片段 140 bp;CYP2E1 引物:上游:5'-TCCAAAGAGAGGCACACTTCC-3',下游:5'-GCACAGCCAATCAGAAAGGTA-3',产物片段 85 bp;CYP4A10 引物:上游:5'-AGAGAGGCA-CACCTTCCTGGT-3',下游:5'-GCACAGCCAAT-CAGAAAGGTA-3',产物片段 80 bp;CPT1 引物:上游:5'-TTATCGTGGTGGTGGGTGT-3',下游:5'-CG CTCACAATGTTCTTCGTCT-3',产物片段 132 bp;COX1 引物:上游:5'-GACCGCAACCTAAACA-CAAC-3',下游:5'-GGTGCCCAAAGAATCAGAA-3',产物片段 88 bp;UCP2 引物:上游:5'-GATA CTCTCCTGAAAGCCAACC-3',下游:5'-CGAAG-GCAGAAGTGAAGTGG-3',产物片段 64 bp;内参照  $\beta$ -actin 引物:上游:5'-GGTCATCACCATTGGCAA-3',下游:5'-GAGTTGAAGGTAGTTTCGTGGA-3',产物片段 105 bp。将对照组设定为 1,仪器软件分析,以目的 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1、CYP4A10、CPT1、COX1、UCP2 基因相对定量值反映 mRNA 表达水平。

4.5 Western blot 方法检测肝脏 PPAR $\alpha$ 、

CYP2E1、CYP4A10、CPT1、COX1、UCP2 蛋白表达 肝脏,匀浆,提取总蛋白,凝胶电泳分离,采用半干转膜法进行转膜处理,加入 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1、CYP4A10、CPT1、COX1、UCP2 稀释一抗或内参孵育,后加入稀释的二抗反应,化学发光法显影和定影。以目的蛋白 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1、CYP4A10、CPT1、COX1、UCP2 与内参  $\beta$ -actin 灰度扫描值的比值反映蛋白表达水平。

5 统计学方法 用 SPSS 13.0 统计软件,计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间各指标比较采用单因素方差分析,两组组间比较采用 SNK 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1 各组小鼠体重和血清生化指标比较(表 1) 与对照组比较,模型组小鼠体重、血清 FBG、TC、TG、FINS 水平和 HOMA-IR 值升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,氧化苦参碱 25 mg/kg 组 TC、TG 和 HOMA-IR 值降低( $P < 0.05$ ),氧化苦参碱 50 mg/kg 组血清 FBG、TC、TG、FINS 水平和 HOMA-IR 降低( $P < 0.05$ ),氧化苦参碱 100 mg/kg 组体重、血清 FBG、TC、TG、FINS 水平和 HOMA-IR 均降低( $P < 0.05$ )。

2 各组小鼠 GIR 比较(表 2) 与对照组比较,模型组小鼠 GIR 明显降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较,氧化苦参碱 50、100 mg/kg 组 GIR 明显升高( $P < 0.05$ )。

3 各组小鼠 FFA 含量比较(表 3) 与对照组比较,模型组小鼠血清和肝脏中 FFA 含量均明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,氧化苦参碱各剂量组血清和肝脏中 FFA 含量均明显降低( $P < 0.05$ )。

4 各组小鼠肝脏 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1 及 CYP4A10 mRNA 及蛋白表达比较(表 4,图 1) 与对照组比较,模型组小鼠肝脏 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1、CYP4A10 mRNA 和蛋白表达明显降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较,氧化苦参碱 25 mg/kg 组 CYP4A10 蛋白表达升高( $P < 0.05$ ),氧化苦参碱 50、100 mg/kg 组 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1、CYP4A10 mRNA 和蛋白表达均升高( $P < 0.05$ )。

表 1 各组小鼠体重及血清生化指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别             | n  | 体重(g)                 | FBG(mmol/L)          | TC(mmol/L)            | TG(mmol/L)           | FINS(mIU/L)           | HOMA-IR               |
|----------------|----|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 对照             | 10 | 33.40 ± 2.76          | 5.10 ± 0.38          | 2.02 ± 0.24           | 0.65 ± 0.08          | 25.86 ± 3.27          | 5.89 ± 1.00           |
| 模型             | 10 | 46.07 ± 3.34 *        | 7.41 ± 0.88 *        | 12.16 ± 8.37 *        | 1.69 ± 0.78 *        | 96.05 ± 9.85 *        | 31.54 ± 4.30 *        |
| 氧化苦参碱 25 mg/kg | 10 | 44.20 ± 3.18          | 6.91 ± 0.97          | 10.41 ± 1.26 $\Delta$ | 1.26 ± 0.15 $\Delta$ | 88.57 ± 8.78          | 27.05 ± 3.52 $\Delta$ |
| 50 mg/kg       | 10 | 42.58 ± 3.82          | 5.96 ± 0.41 $\Delta$ | 9.87 ± 1.04 $\Delta$  | 1.18 ± 0.20 $\Delta$ | 82.72 ± 8.27 $\Delta$ | 21.84 ± 1.87 $\Delta$ |
| 100 mg/kg      | 10 | 41.14 ± 3.12 $\Delta$ | 5.75 ± 0.77 $\Delta$ | 8.81 ± 0.72 $\Delta$  | 1.00 ± 0.16 $\Delta$ | 67.48 ± 9.33 $\Delta$ | 17.27 ± 3.59 $\Delta$ |

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 各组小鼠 GIR 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

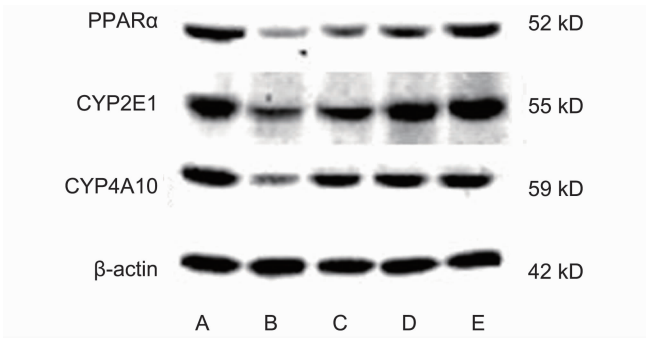
| 组别             | n | GIR[mIU/(kg·min)]         |
|----------------|---|---------------------------|
| 对照             | 8 | 26.65 ± 2.88              |
| 模型             | 8 | 16.46 ± 1.62 *            |
| 氧化苦参碱 25 mg/kg | 8 | 18.53 ± 1.62              |
| 50 mg/kg       | 8 | 20.13 ± 1.84 <sup>△</sup> |
| 100 mg/kg      | 8 | 21.33 ± 2.26 <sup>△</sup> |

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

表 3 各组小鼠 FFA 含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别             | n  | 血清 FFA (mmol/L)          | 肝脏 FFA (mmol/g)           |
|----------------|----|--------------------------|---------------------------|
| 对照组            | 10 | 1.90 ± 0.31              | 13.61 ± 1.78              |
| 模型组            | 10 | 3.17 ± 0.46 *            | 43.76 ± 7.02 *            |
| 氧化苦参碱 25 mg/kg | 10 | 2.65 ± 0.41 <sup>△</sup> | 32.86 ± 3.39 <sup>△</sup> |
| 50 mg/kg       | 10 | 2.45 ± 0.29 <sup>△</sup> | 27.78 ± 3.52 <sup>△</sup> |
| 100 mg/kg      | 10 | 2.23 ± 0.29 <sup>△</sup> | 26.44 ± 3.16 <sup>△</sup> |

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



注:A 为对照组;B 为模型组;C 为氧化苦参碱 25 mg/kg 组;D 为氧化苦参碱 50 mg/kg 组;E 为氧化苦参碱 100 mg/kg 组;图 2 同

图 1 各组小鼠肝脏 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1、CYP4A10 蛋白电泳图

表 4 各组小鼠肝脏 PPAR $\alpha$ 、CYP2E1 及 CYP4A10 mRNA 及蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别             | n | PPAR $\alpha$            |                          | CYP2E1                   |                          | CYP4A10                  |                          |
|----------------|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                |   | mRNA                     | 蛋白                       | mRNA                     | 蛋白                       | mRNA                     | 蛋白                       |
| 对照             | 3 | 1.02 ± 0.15              | 0.97 ± 0.15              | 1.03 ± 0.15              | 0.93 ± 0.13              | 1.03 ± 0.13              | 1.08 ± 0.14              |
| 模型             | 3 | 0.23 ± 0.04 *            | 0.22 ± 0.04 *            | 0.28 ± 0.05 *            | 0.25 ± 0.04 *            | 0.35 ± 0.04 *            | 0.37 ± 0.04 *            |
| 氧化苦参碱 25 mg/kg | 3 | 0.26 ± 0.04              | 0.34 ± 0.04              | 0.34 ± 0.06              | 0.30 ± 0.05              | 0.40 ± 0.07              | 0.46 ± 0.05 <sup>△</sup> |
| 50 mg/kg       | 3 | 0.68 ± 0.11 <sup>△</sup> | 0.65 ± 0.10 <sup>△</sup> | 0.63 ± 0.09 <sup>△</sup> | 0.57 ± 0.08 <sup>△</sup> | 0.82 ± 0.14 <sup>△</sup> | 0.83 ± 0.10 <sup>△</sup> |
| 100 mg/kg      | 3 | 0.55 ± 0.08 <sup>△</sup> | 0.71 ± 0.11 <sup>△</sup> | 0.69 ± 0.12 <sup>△</sup> | 0.62 ± 0.10 <sup>△</sup> | 0.98 ± 0.13 <sup>△</sup> | 1.03 ± 0.14 <sup>△</sup> |

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

表 5 各组小鼠肝脏 CPT1、COX1、UCP2 mRNA 及蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别             | n | CPT1                     |                          | COX1                     |                          | UCP2                     |                          |
|----------------|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                |   | mRNA                     | 蛋白                       | mRNA                     | 蛋白                       | mRNA                     | 蛋白                       |
| 对照             | 3 | 1.00 ± 0.14              | 1.10 ± 0.15              | 1.01 ± 0.12              | 0.21 ± 0.03              | 0.99 ± 0.11              | 0.20 ± 0.03              |
| 模型             | 3 | 0.28 ± 0.04 *            | 0.31 ± 0.05 *            | 2.20 ± 0.35 *            | 1.12 ± 0.18 *            | 4.78 ± 0.62 *            | 0.96 ± 0.12 *            |
| 氧化苦参碱 25 mg/kg | 3 | 0.69 ± 0.08 <sup>△</sup> | 0.76 ± 0.08              | 1.88 ± 0.28              | 0.96 ± 0.14              | 2.11 ± 0.31 <sup>△</sup> | 0.42 ± 0.06 <sup>△</sup> |
| 50 mg/kg       | 3 | 0.87 ± 0.12 <sup>△</sup> | 0.96 ± 0.13 <sup>△</sup> | 1.58 ± 0.20 <sup>△</sup> | 0.81 ± 0.10 <sup>△</sup> | 2.16 ± 0.21 <sup>△</sup> | 0.43 ± 0.04 <sup>△</sup> |
| 100 mg/kg      | 3 | 0.90 ± 0.15 <sup>△</sup> | 0.99 ± 0.17 <sup>△</sup> | 1.10 ± 0.14 <sup>△</sup> | 0.56 ± 0.07 <sup>△</sup> | 1.66 ± 0.22 <sup>△</sup> | 0.33 ± 0.05 <sup>△</sup> |

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

5 各组小鼠肝脏 CPT1、COX1、UCP2 mRNA 及蛋白表达比较(表 5,图 2) 与对照组比较,模型组小鼠肝脏 CPT1 mRNA 和蛋白表达降低,COX1、UCP2 mRNA 和蛋白表达升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,氧化苦参碱 25 mg/kg 组 CPT1 mRNA 表达升高,UCP2 mRNA 和蛋白表达降低( $P < 0.05$ ),氧化苦参碱 50、100 mg/kg 组 CPT1 mRNA 和蛋白表达升高,COX1、UCP2 mRNA 和蛋白表达降低( $P < 0.05$ )。

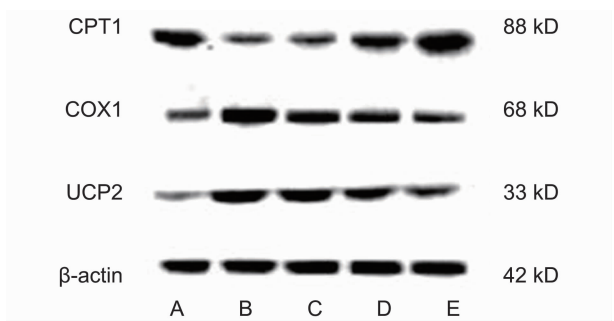


图 2 各组小鼠肝脏 CPT1、COX1、UCP2 蛋白电泳图

讨 论

笔者采用具有高脂喂养脂代谢紊乱遗传背景的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠建立了胰岛素抵抗模型,同时选用具有同遗传背景的野生型 C57BL/6J 小鼠作为对照,并用评价胰岛素抵抗的金指标钳夹实验观察到高脂喂养 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠能够成功制备胰岛素抵抗模型。研究报道,氧化苦参碱具有抗氧化、抗病毒、调血脂、保护肝细胞等药理作用<sup>[7,8]</sup>,笔者发现氧化苦参碱能降低高脂喂

养 ApoE<sup>-/-</sup> 胰岛素抵抗小鼠血糖、血脂、胰岛素,降低 HOMA-IR,升高 GIR,明确了氧化苦参碱改善高脂诱导胰岛素抵抗小鼠的作用。

FFA 水平升高是代谢综合征时糖脂异常的早期表现,血液中 FFA 升高,进一步影响胰岛细胞分泌,干扰胰岛素信号传导,致使肝脏脂质沉积,引发胰岛素抵抗<sup>[9]</sup>。本实验中,高脂喂养的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠血液和肝脏中 FFA 含量均异常升高,为正常对照 C57BL/6J 小鼠中相应浓度的 3 倍,氧化苦参碱干预后,能同时降低血液和肝脏中 FFA 水平,进一步证实了氧化苦参碱可通过抑制 FFA 升高保护胰岛素抵抗小鼠。

PPAR $\alpha$  是肝脏中脂肪酸氧化的关键调控因子,FFA 在机体血液中大量增多,高浓度的脂肪酸会很快激活 PPAR $\alpha$ ,进一步转录激活其下游脂肪酸代谢某些蛋白,从而加速肝脏的脂肪酸摄取和脂肪酸  $\beta$ -氧化<sup>[10,11]</sup>。本研究结果显示胰岛素抵抗小鼠肝组织 PPAR $\alpha$  表达下降,下游的脂肪酸代谢有关因子 CYP2E1 和 CYP4A10 表达下调,致使进入到机体的外源性脂质增加,引起肝组织中脂肪酸代谢异常,在肝脏中沉积,与文献报道一致<sup>[12,13]</sup>。提示氧化苦参碱能够上调 PPAR $\alpha$  表达,加速肝组织脂肪酸氧化,减少脂质沉积。

肝脏中 CPT1 调控脂肪酸向线粒体内的转运,是脂肪酸  $\beta$ -氧化的限速酶,氧化苦参碱干预后,能使 CPT1 表达量上升,使脂肪酸有效进入线粒体代谢,造成肝组织中脂肪酸含量下降<sup>[14]</sup>。COX1 是线粒体电子传递链的限速酶<sup>[15]</sup>,UCP2 是线粒体内膜上的载体蛋白<sup>[16]</sup>,COX1 和 UCP2 持续高表达会造成细胞内 ATP 耗竭,影响线粒体的功能,氧化苦参碱能够通过降低 COX1 和 UCP2 表达,改善线粒体功能,增加其氧化能力,改善高脂诱导的胰岛素抵抗对肝的损伤。

综上所述,氧化苦参碱能改善胰岛素抵抗,调节肝脏脂肪酸氧化是其重要机制,但氧化苦参碱通过那个信号通路调控脂肪酸氧化尚待于进一步的研究发现,同时,胰岛素抵抗发病机制复杂,氧化苦参碱是否可通过其他途径改善胰岛素抵抗尚需大量研究阐明。

## 参 考 文 献

- [1] Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11 (10): 577-591.
- [2] Kok BP, Brindley DN. Myocardial fatty acid metabolism and lipotoxicity in the setting of insulin resistance[J]. *Heart Fail Clin*, 2012, 8 (4): 643-661.
- [3] 陈建杰,唐蕊蕊,王灵台,等. 补肾冲剂联合苦参素治疗肝肾亏虚兼湿热型慢性乙型肝炎临床研究[J]. 中国

- 中西医结合杂志, 2006, 26(1): 23-27.
- [4] 王杏,王超,宋光耀,等. 氧化苦参碱对高脂诱导胰岛素抵抗 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠肝脏脂代谢相关基因的影响[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(12): 1688-1692.
- [5] Yang M, Li S, Liu H, et al. Response to a long-term high-fat diet in the signature of genes involved in lipid metabolism in ApoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *Am J Med Sci*, 2013, 346(3): 211-215.
- [6] Ayala JE, Bracy DP, McGuinness OP, et al. Considerations in the design of hyperinsulinemic-euglycemic clamps in the conscious mouse[J]. *Diabetes*, 2006, 55(2): 390-397.
- [7] Huang LH, Zhong YM, Xiong XH, et al. The Disposition of oxymatrine in the vascularly perfused rat intestine-liver preparation and its metabolism in rat liver microsomes [J]. *J Pharm Sci*, 2016, 105(2): 897-903.
- [8] 柴宁莉,徐世平,万军,等. 氧化苦参碱协同骨髓间充质干细胞治疗大鼠肝纤维化的实验研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33 (6): 840-844.
- [9] 董爱梅,郭晓惠,王薇,等. 非诺贝特对胰岛素抵抗大鼠肝脏脂肪酸氧化的影响[J]. *山东医药*, 2009, 49 (13): 31-33.
- [10] Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. Molecular mechanism of PPAR $\alpha$  action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Hepatol*, 2015, 62(3): 720-733.
- [11] Higashimura Y, Naito Y, Takagi T, et al. Propionate promotes fatty acid oxidation through the up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  in intestinal epithelial cells [J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2015, 61(6): 511-515.
- [12] Myeong JY, Gha YL, Jun JC, et al. Adiponectin increases fatty acid oxidation in skeletal muscle cells by sequential activation of AMP-activated protein kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and peroxisome proliferators-activated receptor alpha [J]. *Diabetes*, 2006, 55(9): 2562-2570.
- [13] Lucero D, Miksztoicz V, Macri V, et al. Overproduction of altered VLDL in an insulin-resistance rat model: Influence of SREBP-1c and PPAR- $\alpha$  [J]. *Clin Invest Arterioscler*, 2015, 27(4): 167-174.
- [14] Ren LP, Chan SM, Zeng XY, et al. Differing endoplasmic reticulum stress response to excess lipogenesis versus lipid oversupply in relation to hepatic steatosis and insulin resistance [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30816-30827.
- [15] Welchen E, Gonzalez DH. Cytochrome c, a hub linking energy, redox, stress and signaling pathways in mitochondria and other cell compartments [J]. *Physiol Plant*, 2016, 157(3): 310-321.
- [16] Toda C, Diano S. Mitochondrial UCP2 in the central regulation of metabolism [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2014, 28(1): 757-564.

(收稿: 2016-08-03 修回: 2017-08-25)

责任编辑: 汤 静