

# 疏肝健脾方药对 LXR $\alpha$ /FAS 信号通路介导非酒精性脂肪性肝病大鼠肝细胞脂肪沉积的影响

龚享文 杨钦河 闫海震 张玉佩 黄 进 徐拥建 张金文 林春梅

**摘要** **目的** 探讨疏肝健脾方药对 LXR $\alpha$ /FAS 信号通路介导非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠肝细胞脂肪沉积的影响。**方法** 选用 SPF 级雄性 SD 大鼠 75 只,共分 5 组,每组 15 只,分别为:正常组,模型组,疏肝组,健脾组及合方组;除正常组,其余均各组采用高脂饮食复制 NAFLD 大鼠模型,给药各组分别给予疏肝方(柴胡疏肝散)、健脾方(参苓白术散)、合方(柴胡疏肝散和参苓白术散合方)进行干预,采用全自动生化分析肝脂改变,分离出肝细胞, Typan blue 染色和流式细胞术(FCM)对肝细胞的活性及纯度进行鉴定。采用实时定量 PCR 法检测肝细胞 LXR $\alpha$  mRNA、FAS mRNA 的表达,采用 Western blot 法检测 LXR $\alpha$ 、FAS 蛋白在肝细胞中的表达。**结果** (1)油红 O 染色后模型组的 NAFLD 大鼠病理结构显示肝细胞肿胀,细胞核位于细胞边缘,细胞浆内可见大小不等的小空泡,部分肝细胞小空泡融合成大泡等特征性改变,提示成功建立高脂饮食诱导 NAFLD 大鼠实验动物模型。各组中药对 NAFLD 病理结构改变均有不同程度的修复作用,尤以疏肝组明显。(2)与正常组比较,模型组肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS 基因及蛋白的表达水平均明显升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,健脾方和疏肝方组的表达水平下调明显( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。**结论** LXR $\alpha$ /FAS 通路是介导 NAFLD 脂质平衡代谢紊乱重要的信号通路,疏肝健脾方药能够调控肝细胞 LXR $\alpha$ /FAS 通路使 NAFLD 大鼠肝细胞脂肪沉积趋于恢复,这可能是疏肝健脾方药抗实验性大鼠脂肪肝的作用机制之一。

**关键词** 非酒精性脂肪性肝病;疏肝健脾方药;肝细胞;LXR $\alpha$ /FAS 通路;脂质代谢

Effect of Shugan Jianpi Recipe on LXR $\alpha$ /FAS Signaling Pathway Mediated Hepatocyte Fatty Deposits in NAFLD Rats GONG Xiang-wen, YANG Qin-he, YAN Hai-zhen, ZHANG Yu-pei, HUANG Jin, XU Yong-jian, ZHANG Jin-wen, and LIN Chun-mei Faculty of Traditional Chinese Medicine, Medical College of Jinan University, Guangzhou (510632), China

**ABSTRACT** **Objective** To explore the effect of Shugan Jianpi Recipe (SJR) on LXR $\alpha$ /FAS signaling pathway mediated hepatocyte fatty deposits in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats. **Methods** Totally 75 SPF grade male SD rats were randomly divided into 5 groups, i.e., the normal control group, the model group, the Shugan Recipe (SR) treatment groups, the Jianpi Recipe (JR) treatment group, and the SJR group. Except rats in the normal control group, the NAFLD rat model was duplicated using high fat diet (HFD). SR (Chaihu Shugan Powder) was administered to rats in the SR group. JR (Shenlin Baizhu Powder) was administered to rats in the JR group. SJR (Chaihu Shugan Powder plus Shenlin Baizhu Powder) was administered to rats in the SJR group. Changes of liver fat were analyzed using automatic biochemical analyzer. Liver cells were separated by low-speed centrifugation. Their activities and purities were identify using Typan blue and flow cytometry (FCM). Expression levels of LXR $\alpha$  and FAS mRNA in hepatocytes detected by Real-time quantitative PCR. Expression levels of LXR $\alpha$  and FAS protein were detected by Western blot. **Results** (1) Pathological results showed in the model group, hepatocytes were swollen with nucleus locating at the cell edge after oil red O staining; unequal sized

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81173216)

作者单位:暨南大学医学院中医系(广州 510632)

通讯作者:杨钦河, Tel:020-85226197, E-mail:tyangqh@jnu.edu.cn

DOI: 10.7661/CJIM.2014.12.1481

small vacuoles could be seen inside cytoplasm. Some small vacuoles merged big vacuoles. All these indicated a NAFLD rat model was successfully established by high fat diet. Pathological structural changes could be impaired to some degree in all medicated groups, especially in the SR group. (2) Compared with the normal control group, expression levels of LXR $\alpha$  and FAS genes and proteins obviously increased in the model group ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, their expression levels were obviously down-regulated in the JR group and the SR group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). Conclusions LXR  $\alpha$ /FAS signaling pathway was an important signaling pathway for mediating lipid metabolism disorders of NAFLD rats. SJR could make hepatocyte fatty deposits tend to repair by adjusting the LXR $\alpha$ /FAS signaling pathway in NAFLD rats, which might be one of important mechanisms for SJR to prevent and cure NAFLD.

**KEYWORDS** non-alcoholic fatty liver disease; Shugan Jianpi Recipe; hepatocyte; LXR $\alpha$ /FAS signaling pathway; lipid metabolism

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种遗传-环境-代谢应激相关的疾病且无过量饮酒史、肝细胞脂肪变性和脂质贮积为特征的临床病理综合征,包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎、相关肝硬化、肝癌等<sup>[1]</sup>。大量研究表明:脂质代谢异常是 NAFLD 发病机制中最关键也是最基础的环节之一<sup>[2,3]</sup>。近年来,随着核受体调节胆固醇和脂肪代谢途径的发现,核受体对肝细胞内脂质平衡机制的研究也逐渐成为研究的热点<sup>[4]</sup>。有研究表明:LXR/FAS 通路是调控肝细胞脂肪代谢平衡的重要通路之一,通过对肝细胞的脂肪代谢平衡的影响,进而影响肝细胞脂肪的沉积<sup>[5]</sup>。由于 NAFLD 发病机制尚不明确,目前缺乏最有效和适当的药物治疗 NAFLD<sup>[6]</sup>,传统中医药能够温和而有效的治疗 NAFLD 已经得到循证医学的证实<sup>[7]</sup>。但中药的意义在于通过由特定活性物质群介导的多靶点、多途径整合作用发挥方证对应的终末效应<sup>[8]</sup>,在前期研究发现疏肝健脾方药具有降低 NAFLD 大鼠肝组织的 LXR $\alpha$ 、FAS 基因和蛋白表达,改善脂质代谢紊乱,减轻脂肪沉积的效果<sup>[9,10]</sup>。本实验在既往研究的基础上,运用疏肝健脾方药对 LXR $\alpha$ /FAS 信号通路介导 NAFLD 大鼠肝细胞脂肪沉积的影响进行研究,旨在从细胞水平进一步探讨疏肝健脾方药防治 NAFLD 的机制,为 NAFLD 的中医药治疗提供实验室依据。

## 材料与方法

**1 动物** SPF 级雄性 SD 大鼠 75 只,体重(200 $\pm$ 20)g,购于广州中医药大学实验动物中心,实验动物批号:0107792,使用许可证号:SCXK(粤)2008-0020;饲养于暨南大学实验动物管理中心 SPF 级动物房内,使用许可证号:SYXK(粤)2012-0117。

## 2 试剂与仪器

**2.1 试剂** Nycodenz(挪威 Axis-Shield 公司),IV 型胶原酶、RPMI-1640 培养基为(美国 GIBCO 公司),蛋白酶 E(德国 Roche 公司),Hepes(美国 Amresco 公司),DNA 酶 I、EGTA(美国 Sigma 公司)。TRIzol 核酸提取液(美国 Invitrogen 公司产品);逆转录试剂盒(日本 TOYOBO 公司)。核蛋白提取试剂盒和蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。Anti-LXR $\alpha$ (美国 Abcam 公司),Anti-FAS(美国 Abcam 公司),Quant cDNA 第一链合成试剂盒、SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒(日本 Takara 公司)。高脂饲料配方:基础饲料 88%,猪油 10%,胆固醇 1.5%,胆盐 0.5%;该饲料由南方医科大学实验动物中心加工,广州市华大辐照中心钴 60 照射灭菌(辐照剂量 25.0kGy)。

**2.2 仪器** 冰冻切片仪(德国 Leica 公司);AU600 全自动生化分析仪(日本 Olympus 公司);超净工作台(苏州净化设备有限公司);CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Thermo 公司);PCT-200 型梯度 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司);Chromo4 实时荧光定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司);悬垂式冷冻离心机(美国 Thermo 公司);倒置相差显微镜(德国 Leica 公司);ELITE 流式细胞仪(美国 Beckman-coulter 公司);凝胶成像系统(中国 AUTEL 公司)。

**3 分组、造模及给药方法** SD 大鼠 75 只适应性饲养 1 周后,采用随机数字表法分为 5 组,分别为:正常组、模型组、疏肝组、健脾组及合方组(柴胡疏肝散联合参苓白术散),每组 15 只。模型建立采用改进后的课题组前期实验方法:正常组大鼠给予维持饲料喂养,其余各组均以高脂饲料喂养高脂饲料,喂养时间为 8 周<sup>[8]</sup>。在造模同时,各组按 10 mL/kg 给予相应的药物或超纯水灌胃干预,分别为疏肝组:柴胡疏肝散

(柴胡 6 g 芍药 5 g 枳壳 5 g 川芎 5 g 香附 5 g 陈皮 6 g 炙甘草 3 g)9.6 g/kg;健脾组:参苓白术散(人参 15 g 茯苓 15 g 白术 15 g 白扁豆 12 g 薏苡仁 9 g 砂仁 6 g 山药 15 g 桔梗 6 g 莲子 9 g 炙甘草 9 g)30 g/kg;合方组:柴胡疏肝散联合参苓白术散合方,39.6 g/kg。上述实验药物均为中药配方免煎颗粒剂,由深圳华润三九医药股份有限公司生产,购于暨南大学附属第一医院中药房,组成、剂量均参考方剂学,剂量为人临床等效剂量的 3 倍用量。正常组和模型组分别给予相应体积的超纯水。

#### 4 检测指标及方法

4.1 肝组织病理变化 8 周后,每组取 9 只大鼠,腹腔注射 3% 戊巴比妥钠麻醉,采集右叶 1.5 cm × 1 cm × 0.5 cm 肝组织,油红 O 染色观察肝组织病理变化。

4.2 肝脂测定 取各组大鼠右叶 1 cm × 1 cm × 1 cm 肝组织,加入异丙醇溶液中,进行肝组织匀浆,后取上清。全自动生化分析仪检测各组肝组织 TC、TG 含量。

4.3 肝细胞的分离与鉴定 具体方法在前期细胞分离与鉴定的基础上加以改进<sup>[9]</sup>,以 RPMI-1640 培养基(含 10% 胎牛血清)10 mL,在无菌培养皿中,撕开肝包膜,使细胞悬液流出,剪碎未完全消化的肝组织。细胞悬液分别经 200 目及 300 目细胞筛网,GBSS 液垂悬,108 r/min 离心 3 min,共 2 次,4 ℃ 离心。离心沉淀物加 GBSS 液垂悬,108 r/min 离心 3 min,共 2 次,4 ℃ 离心洗涤,10% RPMI-1640 培养基垂悬所得沉淀,取悬液 9:1 染色进行细胞计数,细胞终浓度调整为  $2 \sim 5 \times 10^6$  个/mL,此即为分离所获肝细胞,接种于细胞培养瓶,置于 37 ℃、5% 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。95% 肝细胞在培养 12 h 后,可以贴壁,洗去未贴壁的细胞,更换培养基,即得到纯化后的肝细胞。胰酶消化细胞后,PBS 洗涤两次,固定剂固定 15 min,离心去上清后,加入破膜试剂,两种细胞分别加入一抗(兔抗大鼠 ck-18 和 Lysozyme),室温孵育 30 min,加入二抗(羊抗兔 IgG-FITC)室温孵育 30 min,破膜试剂洗涤两次后,上机检测。

4.4 实时定量 PCR 方法检测各组大鼠肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS 的表达 采用 TRIzol 常规一步法提取肝细胞 RNA,测定 RNA 样品含量及纯度,然后逆转录为 cDNA。Gene BANK 中查找到大鼠 GAPDH 内参和 LXR $\alpha$ 、FAS mRNA 序列。引物由上海捷瑞生物工程有限公司设计并合成(见表 1)。PCR 按照试剂盒说明书进行操作,采用 10  $\mu$ L 反应体系。反应条件:

(1)95 ℃ 持续 1 min 预变性;(2)95 ℃ 持续 10 s 变性;(3)GAPDH 57.5 ℃,LXR $\alpha$  54 ℃,FAS 54 ℃,退火 20 s;(4)68 ℃ 持续 30 s 延伸,(2)~(4)39 个循环;(5)溶解曲线分析,72 ~ 95 ℃,持续 5 ~ 10 s。反应完毕,采用 Opticon Monitor 3.1 软件分析,用公式  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法进行相对定量。

表 1 引物序列

| 基因           | 引物序列                                | 扩增长度 (bp) |
|--------------|-------------------------------------|-----------|
| LXR $\alpha$ | 上游引物:5'-AGAAACTGAAGCGTCAAGAAGAGG-3' | 148       |
|              | 下游引物:5'-GGCAGCCACCAACTTCTCAA-3'     |           |
| FAS          | 上游引物:5'-ATGGCTGTCTGCGCTCTGGT-3'     | 193       |
|              | 下游引物:5'-CACGAACGCTCCTCTTCAACTC-3'   |           |
| GAPDH        | 上游引物:5'-GATCCCCTAATCATCAAATG-3'     | 134       |
|              | 下游引物:5'-GAGGGAGTTGTTCATATTTCTC-3'   |           |

4.5 Western blot 法检测肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS 蛋白表达 取 1 mL 的裂解液,在使用前数分钟内加入 PMSF,使 PMSF 的最终浓度为 1 mmol/L。计数新鲜分离的细胞,按照  $5 \sim 10 \times 10^6$  个细胞加入 1 mL RIPA 裂解液,4 ℃,14 000 r/min 离心 5 ~ 10 min,蛋白含量的测定,根据碧云天 BCA 蛋白浓度试剂盒说明书对蛋白含量进行测定。然后转移至 PVDF 膜上,加 5% 脱脂奶粉封闭液,室温下平摇 1 h;洗膜,加一抗稀释液(LXR $\alpha$  1:5 000,FAS 1:2 000),4 ℃ 过夜孵育;洗膜,加二抗稀释液(1:6 000 ~ 8 000)室温孵育 1 h,洗膜后,进行化学发光反应。曝光、显影、定影,最后对结果进行光密度扫描分析。

5 统计学方法 用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间均数比较采用单因素方差分析(SNK 法), $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1 各组肝组织病理结果比较(图 1) 正常组大鼠肝细胞核呈淡蓝染色,少许肝细胞胞浆内可见散在的红染脂滴。模型组大鼠肝细胞肿胀,细胞核呈深蓝染色,细胞浆可见大量红色脂滴,少许肝细胞脂滴融合成大脂滴。各用药组大鼠肝细胞脂滴含量介于正常组与模型组之间,其中以疏肝组大鼠肝细胞脂滴含量与正常组最为接近,提示疏肝组方药减少 NAFLD 大鼠脂肪沉积疗效较好。

2 各组肝脂含量结果比较(表 2) 与正常组比较,模型组大鼠肝组织 TC、TG 含量显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组比较,疏肝组大鼠肝组织 TC、TG 含量显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。各用药组组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

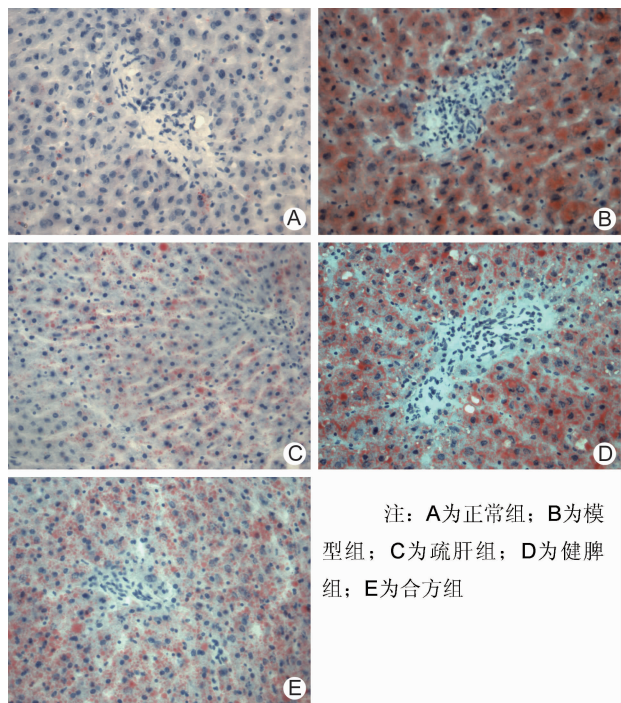


图 1 各组大鼠肝组织油红 O 染色结果 (×100)

表 2 各组大鼠肝脂含量比较 (mmol/L,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别 | n | TC                   | TG                   |
|----|---|----------------------|----------------------|
| 正常 | 8 | 1.02 ± 0.09          | 1.38 ± 0.23          |
| 模型 | 8 | 6.94 ± 0.95 *        | 5.90 ± 1.51 *        |
| 疏肝 | 9 | 5.21 ± 0.90 $\Delta$ | 3.43 ± 0.45 $\Delta$ |
| 健脾 | 8 | 6.16 ± 1.71          | 4.33 ± 1.11          |
| 合方 | 8 | 5.82 ± 1.93          | 4.32 ± 0.78          |

注:与正常组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

3 肝细胞的数量、纯度及活性(图 2,3) 每只 NAFLD 大鼠获得纯化后肝细胞为  $6.0 \sim 7.5 \times 10^8$  个/肝。取少量 2 种细胞,胰酶消化,行台盼蓝染色,倒置相差显微镜细胞计数,测定其活力,肝细胞在 95% 以上。新鲜刚分离获得的肝细胞透亮、呈圆形或球形,折光性强,边界清晰;12 h 后细胞透亮、呈圆形或椭圆

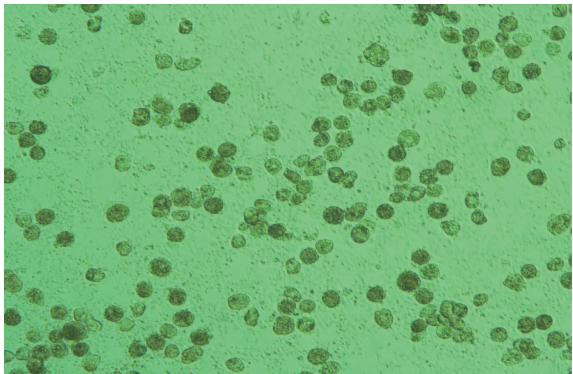


图 2 纯化后的肝细胞 (×100)

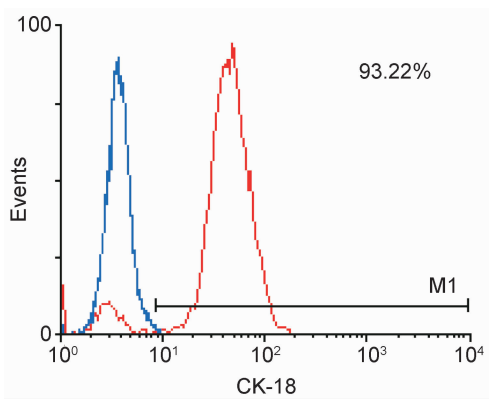


图 3 FCM 细胞鉴定结果

形、边缘伸展。FCM 鉴定肝细胞:共检测细胞 10 000 个,CK-18 受体表达的细胞共 9 322 个,占有细胞比例为 93.22%,即肝细胞纯度为 93.22%。

4 各组肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS mRNA 表达(表 3) 水平比较 与正常组比较,模型组肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS mRNA 表达明显增高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),分别为正常组的 13.08 和 22.63 倍;与模型组比较,各用药组肝细胞 LXR $\alpha$  mRNA 均有不同程度下降( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),其中以疏肝组下降明显,与健脾组比较,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。

表 3 各组肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS mRNA 表达水平比较

| 组别 | n | LXR $\alpha$ mRNA                      | FAS mRNA                               |
|----|---|----------------------------------------|----------------------------------------|
| 正常 | 6 | 1.00(0.41 - 2.46)                      | 1.00(0.69 - 1.45)                      |
| 模型 | 6 | 13.08(3.76 - 45.60) *                  | 22.63(11.31 - 45.25) *                 |
| 疏肝 | 6 | 1.95(0.98 - 3.83) $\Delta\Delta\Delta$ | 3.37(2.25 - 5.10) $\Delta\Delta\Delta$ |
| 健脾 | 6 | 6.28(2.68 - 14.72) $\Delta$            | 8.51(3.97 - 18.25) $\Delta$            |
| 合方 | 6 | 3.29(1.67 - 6.50) $\Delta\Delta$       | 5.31(3.03 - 9.32) $\Delta\Delta$       |

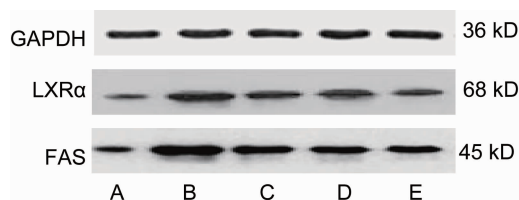
注:与正常组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ , $\Delta\Delta P < 0.01$ ;与健脾组比较, $\Delta P < 0.05$ , $\Delta\Delta P < 0.01$

5 各组肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS 蛋白表达比较(表 4) 与正常组比较,模型组 LXR $\alpha$ 、FAS 蛋白表达均有明显增高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组比较,各用药组 LXR $\alpha$ 、FAS 蛋白表达均有不同程度下降( $P < 0.01$ )。

表 4 肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS 蛋白表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别 | n | LXR $\alpha$ /GAPDH  | FAS/GAPDH            |
|----|---|----------------------|----------------------|
| 正常 | 6 | 0.31 ± 0.04          | 0.19 ± 0.03          |
| 模型 | 6 | 0.94 ± 0.02 *        | 0.47 ± 0.06 *        |
| 疏肝 | 6 | 0.55 ± 0.03 $\Delta$ | 0.34 ± 0.02 $\Delta$ |
| 健脾 | 6 | 0.64 ± 0.03 $\Delta$ | 0.38 ± 0.04 $\Delta$ |
| 合方 | 6 | 0.79 ± 0.06 $\Delta$ | 0.36 ± 0.03 $\Delta$ |

注:与正常组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为疏肝组;D 为健脾组;E 为合方组

图 4 肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS 蛋白灰度值比较

## 讨 论

NAFLD 的最典型特征是肝脏脂肪积聚,各种原因引起肝脏内脂质代谢自稳的破坏致使脂质在肝细胞异常沉积,而肝内脂肪沉积又是代谢紊乱的启动因素,当肝细胞异常脂质沉积到一定程度,可导致肝细胞内脂质动态平衡紊乱,进而加重 NAFLD 的脂质代谢<sup>[9,13]</sup>。本研究中模型组 NAFLD 大鼠肝脂含量较正常组存在非常显著性差异( $P < 0.01$ ),说明 NAFLD 大鼠肝脏中存在大量脂肪沉积,出现了较为明显的脂质代谢紊乱。而油红 O 染色进一步证实了肝细胞存在明显的脂肪沉积,也证实了 NAFLD 模型组大鼠肝细胞存在明显脂肪变性和脂肪沉积。

肝细胞脂质平衡受到多条信号途径共同调控和影响,核受体对肝细胞内脂质平衡机制的研究也日趋增多<sup>[14]</sup>。本实验研究了核受体 LXR $\alpha$  与靶基因 FAS 结合对肝细胞脂肪酸的生成进行调节,从而影响脂肪的合成。LXR $\alpha$  是脂肪酸生成的一些关键酶的基因,其中 FAS 是它的下游基因,LXR 对于脂肪合成的关键酶 FAS 的调节,既可以通过直接与 FAS 启动子结合,又可以间接通过 SREBP-1 $\alpha$  途径上调 FAS 基因表达来实现<sup>[15]</sup>。SREBP-1 $\alpha$  的过度表达可引起 FAS 基因转录增加,从而导致 FAS 活性的增强,并引起脂肪酸合成增多和增加,在肝细胞中异常沉积形成脂肪肝<sup>[4]</sup>。在缺失 LXR 基因的小鼠体内,肝 SREBP-1 $\alpha$  的 mRNA 基础表达水平显著下降,与之相平行的是受 SREBP-1 $\alpha$  调控的 FAS mRNA 水平显著下降<sup>[5]</sup>。本研究结果表明,NAFLD 模型组较正常组肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS 基因及蛋白的表达水平均明显升高( $P < 0.01$ ),这个结果与上述研究结果相一致,结合油红 O 染色和肝脂的结果可见:LXR $\alpha$ /FAS 信号通路介导 NAFLD 大鼠肝细胞脂肪沉积,导致肝细胞脂质平衡紊乱。但其具体机制尚待进一步研究,或许与 LXR $\alpha$ /FAS 信号通路导致内质网应激相关<sup>[16]</sup>。

脂肪肝属于中医古代“胁痛”、“肝著”、“肝痞”等

病范畴,但无明显对应关系。前期研究表明认为肝郁脾虚是 NAFLD 发生发展的基本病机,疏肝健脾治法当贯穿疾病全程<sup>[17,18]</sup>。由于脂质属于精微物质的范畴,机体内的精微物质是在不断地化生、转运、转化和代谢的,处于一种动态平衡中,这一平衡,有赖于脾主运化与肝主疏泄功能,二者相互协调、相互为用维持动态平衡,维持脂质代谢自稳态,一旦肝郁脾虚则脂质代谢自稳态出现紊乱,导致 NAFLD 的发生发展<sup>[17]</sup>。疏肝健脾方药主要由中医传统名方柴胡疏肝散、参苓白术散组成,主要针对肝郁脾虚的病机。现代研究表明:柴胡疏肝散及参苓白术散的主要活性成分包括:阿魏酸、人参皂苷、芍药苷、柚皮苷、橙皮苷、水合橙皮内酯、新橙皮苷、芍药内酯苷和白术苷等药物成分组成,其中人参皂苷、白术苷等成分可能具有降低脂的效果<sup>[19,20]</sup>。在本次研究中疏肝健脾方药具有显著改善肝细胞脂肪沉积,降低肝脂的效果,但以疏肝组疗效最为显著,提示 NAFLD 初期演变,病机可能以肝郁为主,与前期的研究结果相一致。各中药干预组对 NAFLD 大鼠肝细胞 LXR $\alpha$ 、FAS 基因及蛋白的表达水平均明显下调作用( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),表明疏肝健脾方药能够调节 LXR $\alpha$ /FAS 信号通路,达到缓解 NAFLD 大鼠肝细胞脂肪沉积的目的,使肝细胞脂质紊乱趋于平衡。调节 LXR $\alpha$ /FAS 信号通路缓解 NAFLD 大鼠肝细胞脂肪沉积可能是疏肝健脾方药作用机理之一。

## 参 考 文 献

- [1] Latea L, Negrea S, Bolboaca S. Primary non-alcoholic fatty liver disease in hypertensive patients [J]. *Austr Med J*, 2013, 6(6): 325-330.
- [2] Tan TC, Crawford DH, Jaskowski LA, et al. Altered lipid metabolism in Hfe-knockout mice promotes severe NAFLD and early fibrosis [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 301(5): G865-G876.
- [3] Musso G, Gambino R, Cassader M. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *Prog Lipid Res*, 2009, 48(1): 1-26.
- [4] 毛奇琦,孙旭. 核受体在胆汁酸和胆固醇代谢中的作用 [J]. *国际消化病杂志*, 2008, 28(3): 243-245.
- [5] Yap F, Craddock L, Yang J. Mechanism of AMPK suppression of LXR dependent Srebp-1 transcription [J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(5): 645-650.
- [6] Tomeno W, Yoneda M, Imajo K, et al. Emerging drugs for non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Ex-*

- pert Opin Emerg Drugs, 2013, 18(3): 279-290.
- [7] Shi KQ, Fan YC, Liu WY, et al. Traditional Chinese medicines benefit to nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(10): 9715-9722.
- [8] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇 [J]. 药学学报, 2012, 47(6): 696.
- [9] 杨钦河, 王文晶, 冯高飞, 等. 疏肝健脾方药对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝组织 LXR $\alpha$  mRNA 及蛋白表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(22): 4371-4375.
- [10] 杨钦河, 顾常霖, 陈同炎, 等. 疏肝健脾方药对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝组织脂肪酸合成酶 mRNA 及蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(4): 843-846.
- [11] 孟民杰, 杨钦河, 王强, 等. 不同治法方药对脂肪肝大鼠 kupffer 细胞 ERK1/2 蛋白活性的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23(8): 1551-1555.
- [12] 冯高飞, 杨钦河, 王文晶, 等. 非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝细胞和库普弗细胞同时分离及鉴定 [J]. 广东医学, 2012, 33(1): 40-43.
- [13] 高鑫. 肝脏脂肪沉积是代谢紊乱的启动因素 [J]. 中华医学杂志, 2011, 91(26): 1803-1804.
- [14] 杜烧, 谢梅林. 肝细胞内脂质平衡机制及其调节药物的研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(4): 755-759.
- [15] 王冰, 程丽静, 高政南, 等. 肝 X 受体的激活对小鼠糖尿病肝脏脂肪酸合成酶表达的调节 [J]. 中华医学杂志, 2008, 88(12): 848-852.
- [16] Musso G, Gambino R, Cassader M. Cholesterol metabolism and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis [J]. Prog Lipid Res, 2012, 52(1): 175-191.
- [17] 乔娜丽, 杨钦河, 纪桂元, 等. 论肝郁脾虚是脂肪肝的基本发病病机 [J]. 时珍国医国药, 2008, 153(5): 1238-1239.
- [18] 杨钦河, 凌家生, 平换换, 等. 非酒精性脂肪肝的中医药防治思路与对策 [J]. 中医杂志, 2007, 48(8): 746-748.
- [19] 王术玲, 贾薇, 高晓玲. 柴胡疏肝散水提液 HPLC 特征图谱研究及指标成分的测定 [J]. 中成药, 2012, 34(12): 2384-2388.
- [20] 李文兰, 代岐昌, 季宇彬, 等. HPLC-ESI/MS 分析八珍汤化学成分及来源 [J]. 中国药学杂志, 2009, 44(21): 1622-1626.

(收稿: 2013-07-19 修回: 2014-09-01)

## 第十一届全国中西医结合血液学学术会议暨第二届 中西医结合血液学高峰论坛会议纪要

中国中西医结合学会血液学专业委员会于 2014 年 08 月 22—24 日在福建省厦门市举办了“第十一届全国中西医结合血液学学术会议暨第二届中西医结合血液学高峰论坛”。本次论坛集合了国内中西医结合血液学界著名的专家学者, 是国内中西医结合血液学领域一年一度的盛会。

全国 20 余省市的血液学科知名专家、中青年专家学者、研究生共计近 100 人参加了本次会议研讨。会议由中国中西医结合学会第六届血液学专业委员会主任委员刘锋教授主持。大会聘请了国内中西医结合血液学研究领域的知名专家、教授相继授课与讨论。北京大学人民医院的江倩教授做了“慢性粒细胞白血病的一线治疗: 伊马替尼? 二代 TKI”的报告; 中国医学科学院血液病医院张凤奎教授讨论了“贫血的临床诊断策略”; 北京朝阳医院陈文明教授探讨了“2013 年欧洲血液病学会 (EHA) 多发性骨髓瘤治疗新理念”; 上海中医药大学岳阳中西医结合医院周永明教授讲解了“难治性白血病的病机特点及治疗对策”; 华中科技大学同济医院刘文励教授探讨了“2013 年 MDS 欧洲诊治指南简读及病例介绍”; 浙江中医药大学高瑞兰教授分析了“血液病中药新药研发思路与策略”; 中国中医科学院西苑医院刘锋教授展望了“血液病中西医结合临床研究的过去与未来”。多位演讲者的报告以临床诊治为中心, 基于临床研究, 涉及临床、基础、研究等方面, 内容精彩而实用, 充分显现了中西医结合诊治血液病的当前治疗状况, 为国内中西医结合血液学医务工作者 (尤其是中青年学者) 和研究生提供了一个增长临床经验、促进学习和交流的良好平台。同时, 本次大会会有 20 余篇大会发言和交流的论文, 内容涉及再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征、免疫性血小板减少症老年白血病、骨髓增殖性肿瘤、霍奇金淋巴瘤等血液系统的疾病。

明年血液学专业委员会将继续组织举办中西医结合血液学专题研讨会和学习班, 传达国内中西医结合血液病研究新进展, 吸引更多的中西医结合血液学工作者参会, 为中青年临床医师的成长提供交流和学术展示的舞台, 受到与会者的支持和认同。

(唐旭东供稿)