

• 论著-实验研究 •

茵陈苓桂剂对非酒精性脂肪性肝炎大鼠 胰岛素抵抗的影响^{*}

李峰¹ 谢春娥² 胡世平¹ 吴迪³ 薛晓轩² 李军祥² 王允亮² 李晓红² 袁亚利³ 王乾皓³

[摘要] 目的:观察茵陈苓桂剂对非酒精性脂肪性肝炎(NASH)大鼠胰岛素抵抗的影响,探讨茵陈苓桂剂对 NASH 大鼠的作用机制。方法:将 60 只 SPF 级雄性 SD 大鼠适应性喂养 7 d 后,随机分成正常组(10 只)和造模组(50 只),正常组予以普通饲料喂养,造模组予以高脂饲料喂养 8 周;在造模组中随机取 2 只大鼠,确定造模成功后,再将造模组剩下的 48 只大鼠随机分为模型组(8 只)、茵陈苓桂剂高剂量组(10 只)、茵陈苓桂剂中剂量组(10 只)、茵陈苓桂剂低剂量组(10 只)和多烯磷脂酰胆碱组(10 只);予对应灌胃药物给药 4 周。测定大鼠的体重和肝湿重以计算肝指数,测量大鼠空腹血清葡萄糖(GLU)含量和用 ELISA 测定胰岛素(INS)水平,来计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。用生化法检测大鼠丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆固醇(T-CHO)和甘油三酯(TG)含量;ELISA 测定大鼠游离脂肪酸(FFA)、瘦素(LEP)、脂联素(APN)水平。结果:与正常组比较,模型组大鼠的肝指数、HOMA-IR 及大鼠血清 ALT、AST、T-CHO、TG、FFA 水平显著增高($P<0.01$),血清及肝组织匀浆 LEP 水平显著升高($P<0.01$),APN 水平显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂各剂量组大鼠肝指数、HOMA-IR 值及大鼠血清 AST、T-CHO 水平显著降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$),血清 APN 水平显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$);多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂高、中剂量组大鼠 ALT、TG 水平均显著性降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$),肝组织匀浆 APN 水平显著升高($P<0.01$);多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂高剂量组大鼠血清 FFA 水平显著降低($P<0.01$)。在血清及肝组织匀浆 LEP 含量方面,多烯磷脂酰胆碱组大鼠与模型组比较显著降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$);而茵陈苓桂剂对于 NASH 大鼠血清及肝组织匀浆 LEP 水平的影响差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:茵陈苓桂剂能够通过改善肝指数、HOMA-IR 及 ALT、AST、T-CHO、TG、FFA 水平,调控血清及肝组织匀浆 APN 含量,降低胰岛素抵抗,而达到防治 NASH 的目的。

[关键词] 茵陈苓桂剂;非酒精性脂肪性肝炎;胰岛素抵抗;瘦素;脂联素

DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2021.12.004

[中图分类号] R575.1 **[文献标志码]** A

Effect of Yincheng Lingui Prescription on insulin resistance in nonalcoholic steatohepatitis rats

LI Feng¹ XIE Chun'e² HU Shiping¹ WU Di³ XUE Xiaoxuan² LI Junxiang²
WANG Yunliang² LI Xiaohong² YUAN Yali³ WANG Qianhao³

(¹Department of Liver Diseases, Shenzhen Hospital[Longgang], Beijing University of Chinese Medicine, Shenzhen, 518100, China; ²Department of Spleen, Stomach and Hepatobiliary, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine; ³Graduate School of Beijing University of Chinese Medicine)

Corresponding author: XIE Chun'e, E-mail: xiechune@sina.com

Abstract Objective: Observation of the effect of Yincheng Lingui Prescription on insulin resistance in rats with nonalcoholic steatohepatitis(NASH). To explore the mechanism of action of Yincheng Lingui prescription on NASH rats. **Methods:** After 60 SPF male SD rats were fed adaptively for 7 days, they were randomly divided into normal group(10) and model group(50). The normal group was fed with normal feed and the model was fed with high-fat feed for 8 weeks. Randomly take 2 rats in the model, and determine the success of the model, then randomly divide the remaining 48 rats in the model into the model group(8), Yincheng Lingui Prescription high-dose

^{*}基金项目:北京中医药大学科研创新团队项目(No:2019-JYB-TD004);北京中医药大学在读研究生项目(No:2019-JYB-XS-214)

¹北京中医药大学深圳医院(龙岗)肝病科(广东深圳,518100)

²北京中医药大学东方医院脾胃肝胆科

³北京中医药大学研究生院

通信作者:谢春娥, E-mail: xiechune@sina.com

group(10), Yincheng Linggui Prescription medium-dose group(10), Yincheng Linggui Prescription low-dose group(10), and polyene phosphatidylcholine group(10); corresponding drugs were given for 4 weeks. The body mass and wet liver weight of the rats were measured to calculate the liver index. The fasting serum glucose(GLU) content of rats was measured and the insulin(INS) level was measured by ELISA to calculate the insulin resistance index(HOMA-IR). Biochemical methods were used to detect rats alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), total cholesterol(T-CHO) and triglyceride(triglyceride, TG) content. ELISA measures the levels of free fatty acid(FFA), leptin(LEP) and adiponectin(APN) in rats. **Results:** Compared with the normal group, the liver index, HOMA-IR and serum ALT, AST, T-CHO, TG, and FFA levels of the model group were significantly increased($P<0.01$), and the LEP level of serum and liver tissue homogenate was significantly increased($P<0.01$), APN level was significantly reduced($P<0.01$). Compared with the model group, the liver index, HOMA-IR value and serum AST and T-CHO levels of rats in the polyene phosphatidylcholine group and Yincheng Linggui prescription each dose group were significantly reduced($P<0.01$ or $P<0.05$), The serum APN level was significantly increased($P<0.01$ or $P<0.05$); The levels of ALT and TG of rats in the polyene phosphatidylcholine group and Yincheng Linggui Prescription agent high and medium dose groups were significantly reduced($P<0.01$ or $P<0.05$), and the APN level of liver tissue homogenate was significantly increased($P<0.01$). The serum FFA level of rats in the polyene phosphatidylcholine group and the Yincheng Linggui Prescription agent high-dose group was significantly reduced($P<0.01$). In terms of LEP content in serum and liver tissue homogenate, rats in the polyene phosphatidylcholine group were significantly lower than the model group($P<0.01$ or $P<0.05$). The effect of Yincheng Linggui Prescription on the LEP levels of serum and liver tissue homogenates of NASH rats has not been found to be statistically significant($P>0.05$). **Conclusion:** Yincheng Linggui Prescription can prevent and cure NASH by improving liver index, HOMA-IR and ALT, AST, T-CHO, TG, FFA levels, regulating APN content in serum and liver tissue homogenate, and reducing insulin resistance.

Key words Yincheng Linggui Prescription; non-alcoholic fatty liver disease; insulin resistance; leptin; adiponectin

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除酒精和其他明确的损肝因素等以外所致的,病变主要在肝小叶,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变性和脂肪贮积为病理特征的临床病理综合征;它是一种与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)和遗传易感密切相关的代谢应激性肝损伤,疾病谱包括非酒精性肝脂肪变(non-alcoholic hepatic steatosis)、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)^[1-3]。普通成人 NAFLD 患病率为 6.3%~45.0%,其中 10%~30%为 NASH,约 15%的 NASH 患者可进展为肝硬化,其中 3%的患者进展为肝癌^[4]。随着人们饮食和生活习惯的改变, NASH 已成为慢性肝损伤发生的主要原因之一,严重威胁着人们的身体健康。

我们前期的临床研究发现茵陈苓桂剂对 NASH 患者的右肋胀痛、右肋下痞块、口干口苦等临床症状有明显的治疗作用^[5],但其作用机制尚不清楚;结合可能的 NASH 发病机制,本研究拟建立 NASH 大鼠模型,从 IR 相关方面入手,探讨茵陈苓桂剂对 NASH 大鼠的作用机制,为临床应用提供更多的实验依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

60 只 8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重(200±20) g。高脂饲料配方:78.8%基础饲料+10%猪

油+10%蛋黄粉+1%胆固醇+0.2%胆酸钠。

1.2 药物

茵陈苓桂剂(茵陈蒿 18 g, 栀子 9 g, 大黄 6 g, 茯苓 12 g, 桂枝 9 g, 白术 6 g, 甘草 6 g, 绞股蓝 15 g 等)采用中药配方颗粒,购于北京中医药大学东方医院;阳性对照药:多烯磷脂酰胆碱,购于北京中医药大学东方医院(规格:228 mg/粒)。

1.3 试剂

谷丙转氨酶(ALT/GPT)试剂盒、谷草转氨酶(AST/GOT)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒、总胆固醇(T-CHO)试剂盒、大鼠游离氨基酸(FFA)酶联免疫试剂盒、大鼠胰岛素(INS)酶联免疫试剂盒、大鼠瘦素(LEP)酶联免疫试剂盒、大鼠脂联素(APN)酶联免疫试剂盒,试剂盒均购自南京建成公司。

1.4 主要仪器

分光光度计(型号:UV-2100;尤尼柯)、恒温水浴锅(北京市长风仪器仪表公司)、离心机(型号:3K18, sigma)、标准规格酶标仪(型号:Multiskan MK3, Thermo Scientific)、自动洗板机(型号:DEM-3, 北京拓普分析仪器有限公司)、电热恒温培养箱(型号:SKP-02.600, 黄石市恒丰医疗器械有限公司)、Rm-2235 石蜡切片机(德国莱卡公司)、EG1150H 包埋机(德国莱卡公司)、OLYMPUS 光学显微镜等。

1.5 方法

1.5.1 造模、分组及给药 将 60 只 SPF 级雄性

SD 大鼠适应性喂养 7 d 后,随机分为正常组(10 只)和造模组(50 只),正常组予以普通饲料喂养,造模组予以高脂饲料喂养 8 周,动物饲养环境温度为:20~24℃,湿度为:(50±5)%,给予 12 h 光照,昼夜循环,自由摄食水,建立 NASH 模型。对于 NASH 大鼠模型的建立,目前常用的方法有 3 种,即:营养失调性脂肪肝模型、有毒化学物质与基因质粒诱发脂肪肝模型、特殊品系脂肪肝模型^[6-8]。本实验采用郭一等^[9]的方法复制模型,即用高脂饮食诱发 NASH 大鼠模型的形成,造模 8 周后,在造模组中随机取出 2 只大鼠,取肝组织做病理切片,行苏木精-伊红染色,观察肝组织病理学改变,发现大鼠肝组织细胞体积增大,存在脂肪变,细胞质中充满细小空泡,肝细胞胞质内出现大小不等圆形空泡,肝小叶结构破坏,小叶内有炎性细胞浸润,出现少许肝细胞点状坏死,即为模型建立成功。将造模成功剩下的大鼠(48 只)随机分成:模型组(8 只)、茵陈苓桂剂高剂量组(10 只)、茵陈苓桂剂中剂量组(10 只)、茵陈苓桂剂低剂量组(10 只)和多烯磷脂酰胆碱组(10 只)。灌胃给药 4 周,大鼠的给药量按照徐叔云教授主编的《药理实验方法学》中的人和动物体表面积比值计算公式计算,其中成人的体质量为 60 kg,得出大鼠茵陈苓桂剂高剂量组生药给药量为 19.6 g/kg,大鼠茵陈苓桂剂中剂量组生药给药量为 9.8 g/kg,大鼠茵陈苓桂剂低剂量组生药给药量为 4.9 g/kg;多烯磷脂酰胆碱组生药给药量为 0.15 g/kg;正常组和模型组予以等体积蒸馏水灌胃,给药容积为 10 mL/kg。各组大鼠饮食不变,观察大鼠进食、饮水、行为、活动、精神状态、毛发等情况,每 1 周记录动物体质量 1 次,并根据体质量来调整大鼠的给药剂量。

1.5.2 取材 实验至第 12 周后,禁食 24 h,予大鼠腹腔注射 10%的水合氯醛麻醉,其中茵陈苓桂剂中剂量组的 2 只大鼠因不耐受麻醉而死亡。腹主动脉取血,3000 r/min 离心 15 min,分离血清,-80℃保存。迅速取出肝脏,称定肝脏湿重,然后从肝脏右叶取大小约 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 肝组织制作肝组织匀浆。

1.5.3 计算肝指数 麻醉前检测大鼠的体重,麻

醉后取出肝脏,称量肝脏的湿重。肝指数=(肝湿重/体重)×100%。

1.5.4 计算胰岛素抵抗指数 麻醉前取大鼠尾端静脉血测大鼠血糖,用分离出的腹主动脉血清采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定大鼠的胰岛素水平,计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)=空腹血糖×空腹胰岛素/22.5。

1.5.5 大鼠血清指标的测定 大鼠血清 ALT、AST、TG、T-CHO 水平均按照试剂盒的说明进行测定;用 ELISA 测定大鼠血清 INS、FFA、LEP 及 APN 含量。

1.5.6 大鼠肝匀浆指标测定 精确称取相同部位肝组织 200 mg,用预冷生理盐水漂洗,按质量体积(g:mL)1:9 加入匀浆递质 1.8 mL,冰浴条件下 2000 r/min 匀浆 3~5 min,制成 10%肝组织匀浆。按照试剂盒说明书操作检测肝组织 LEP、APN 水平。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据符合正态分布,多个样本均数比较采用单因素方差分析,其中方差齐两两比较采用 LSD 法,方差不齐采用 Dunnett's T3 法进行组间比较;数据不符合正态分布,采用非参数检验,两两比较采用 2 个独立样本的非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 茵陈苓桂剂干预对 NASH 大鼠的脂质代谢紊乱和肝指数的影响

与正常组比较,模型组大鼠呈现出脂质代谢紊乱的状态,具体表现为:血清 T-CHO、TG、FFA 水平及肝指数显著升高($P < 0.01$)。而与模型组比较,多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂各剂量组大鼠血清 T-CHO 水平及肝指数显著降低($P < 0.01$);多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂高、中剂量组大鼠血清 TG 水平显著降低($P < 0.01$);多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂高剂量组大鼠血清 FFA 水平显著降低($P < 0.01$)。结果见表 1 和图 1。以上结果显示,茵陈苓桂剂干预能呈剂量依赖性地改善 NASH 大鼠脂质代谢紊乱状态和肝指数。

表 1 茵陈苓桂剂干预对 NASH 大鼠的脂质代谢紊乱和肝指数的影响

$\bar{x} \pm s$

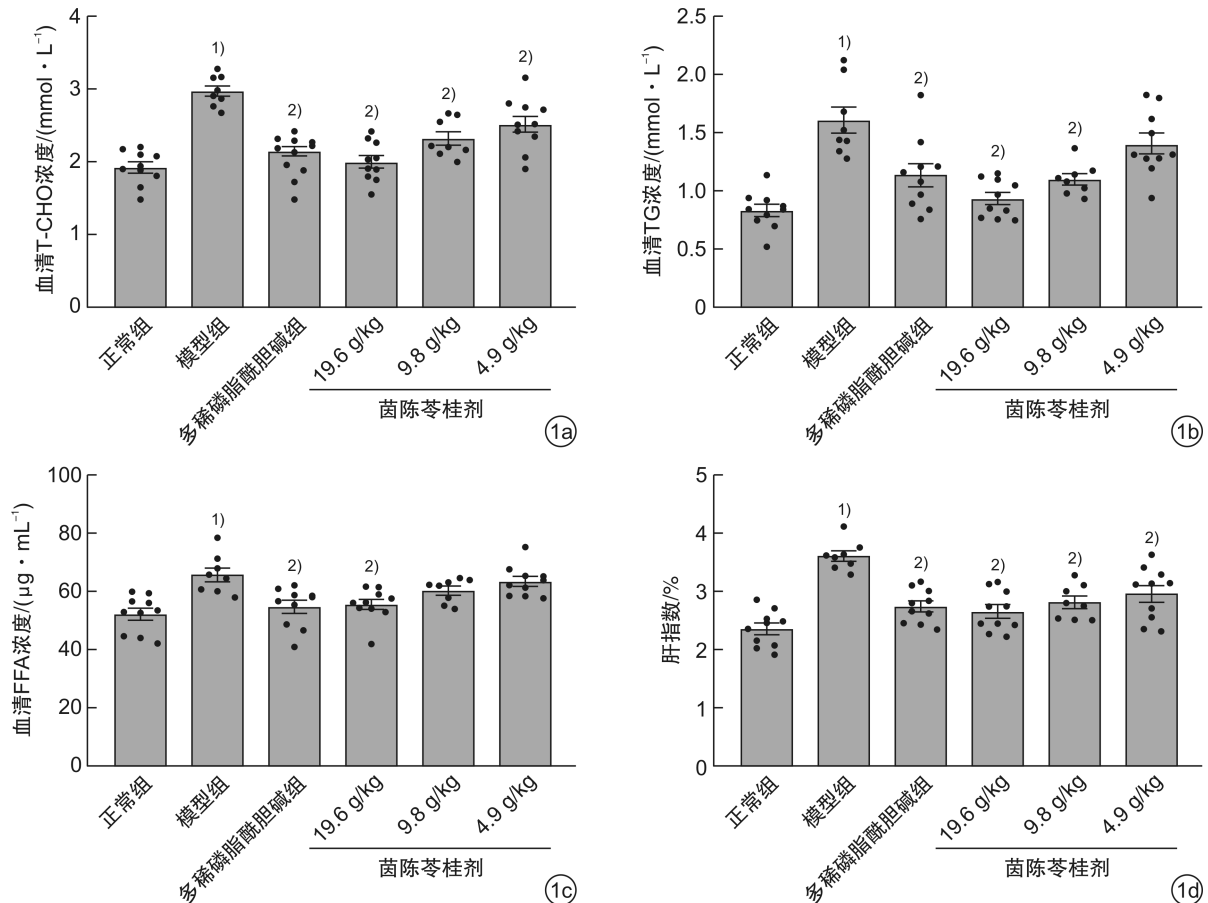
组别	T-CHO/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	FFA/(μg·mL ⁻¹)	肝指数/%
正常组	1.89±0.23	0.84±0.16	52.39±6.44	2.36±0.30
模型组	2.95±0.21 ¹⁾	1.62±0.32 ¹⁾	65.89±6.74 ¹⁾	3.61±0.25 ¹⁾
茵陈苓桂剂高剂量组	1.97±0.27 ²⁾	0.94±0.16 ²⁾	55.72±5.64 ²⁾	2.66±0.35 ²⁾
茵陈苓桂剂中剂量组	2.30±0.26 ²⁾	1.11±0.14 ²⁾	60.48±4.11	2.81±0.29 ²⁾
茵陈苓桂剂低剂量组	2.49±0.36 ²⁾	1.41±0.28	63.73±5.31	2.97±0.45 ²⁾
多烯磷脂酰胆碱组	2.11±0.22 ²⁾	1.15±0.31 ²⁾	54.86±6.97 ²⁾	2.75±0.29 ²⁾

与正常组比较,¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

2.2 茵陈苓桂剂干预对 NASH 大鼠肝功能损伤的影响

与正常组比较, NASH 模型组大鼠出现肝功能受损, 具体表现为血清中 ALT 与 AST 水平均显著性升高($P < 0.01$)。而与模型组比较, 多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂各剂量组大鼠血清 AST 水

平均显著性降低($P < 0.01$); 多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂高、中剂量组大鼠血清 ALT 水平明显降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结果见表 2 和图 2。以上结果显示茵陈苓桂剂能改善 NASH 大鼠的肝功能损伤, 且其改变的程度与剂量有关。



1a: 血清 T-CHO 浓度; 1b: 血清 TG 浓度; 1c: 血清 FFA 浓度; 1d: 肝指数。正常组: $n=10$; 模型组: $n=8$; 多烯磷脂酰胆碱组: $n=10$; 高剂量组: $n=10$; 中剂量组: $n=8$; 低剂量组: $n=10$ 。与正常组比较, $^{1)} P < 0.01$; 与模型组比较, $^{2)} P < 0.01$ 。

图 1 茵陈苓桂剂干预对 NASH 大鼠的脂质代谢紊乱和肝指数的影响

表 2 茵陈苓桂剂干预对 NASH 大鼠肝功能损伤的影响

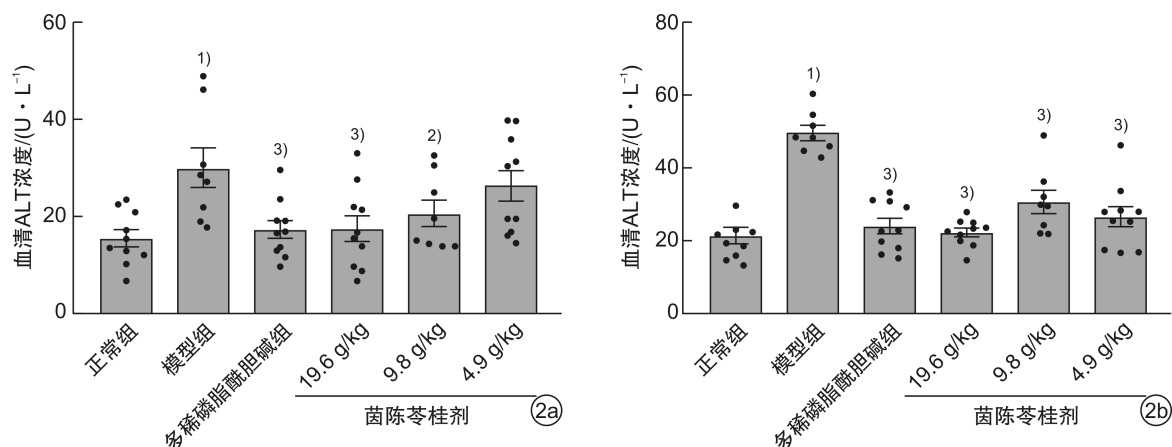
组别	例数	U/L, $\bar{x} \pm s$	
		ALT	AST
正常组	10	15.71 $\pm$ 5.45	21.82 $\pm$ 6.84
模型组	8	30.15 $\pm$ 11.70 ¹⁾	49.95 $\pm$ 5.75 ¹⁾
茵陈苓桂剂高剂量组	10	17.75 $\pm$ 8.47 ³⁾	22.70 $\pm$ 3.74 ³⁾
茵陈苓桂剂中剂量组	8	20.84 $\pm$ 7.79 ²⁾	31.05 $\pm$ 8.95 ³⁾
茵陈苓桂剂低剂量组	10	26.56 $\pm$ 10.05	26.96 $\pm$ 8.91 ³⁾
多烯磷脂酰胆碱组	10	17.52 $\pm$ 5.91 ³⁾	24.34 $\pm$ 6.70 ³⁾

与正常组比较, $^{1)} P < 0.01$; 与模型组比较, $^{2)} P < 0.05$, $^{3)} P < 0.01$ 。

2.3 茵陈苓桂剂干预对 NASH 大鼠 APN、LEP 水平及 HOMA-IR 的影响

与正常组比较, 模型组大鼠血清及肝组织

APN 含量显著降低($P < 0.01$), LEP 含量显著升高($P < 0.01$), HOMA-IR 值显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂各组大鼠血清 APN 含量显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), HOMA-IR 值显著降低($P < 0.01$); 多烯磷脂酰胆碱组及茵陈苓桂剂高、中剂量组大鼠肝组织匀浆 APN 含量显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 多烯磷脂酰胆碱组大鼠血清及肝组织匀浆 LEP 含量显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 而茵陈苓桂剂各剂量组大鼠血清及肝组织匀浆 LEP 水平的改变差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果见表 3、表 4 和图 3。以上结果表明, 茵陈苓桂剂是通过改善 NASH 大鼠的脂联素水平, 来改善其胰岛素抵抗, 且高剂量组的效果要优于中、低剂量组。



2a:血清 ALT 浓度;2b:血清 AST 浓度。正常组: $n=10$;模型组: $n=8$;多烯磷脂酰胆碱组: $n=10$;高剂量组: $n=10$;中剂量组: $n=8$;低剂量组: $n=10$ 。与正常组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$ 。

图 2 茵陈苓桂剂干预能改善 NASH 大鼠的肝功能损伤

表 3 茵陈苓桂剂干预对 NASH 大鼠血清和肝组织 APN 水平的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	血清 APN/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	肝组织 APN/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)
正常组	10	22.04 ± 1.79	0.18 ± 0.02
模型组	8	$9.75 \pm 1.08^{1)}$	$0.12 \pm 0.01^{1)}$
茵陈苓桂剂高剂量组	10	$15.21 \pm 1.79^{3)}$	$0.14 \pm 0.01^{3)}$
茵陈苓桂剂中剂量组	8	$14.04 \pm 1.34^{3)}$	$0.14 \pm 0.01^{3)}$
茵陈苓桂剂低剂量组	10	$11.61 \pm 1.40^{2)}$	0.13 ± 0.02
多烯磷脂酰胆碱组	10	$16.16 \pm 1.76^{3)}$	$0.15 \pm 0.02^{3)}$

与正常组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$ 。

3 讨论

NAFLD 的病因复杂,发病机制尚未完全明确,Day 等在 1998 年提出的“二次打击”学说已经被广泛接受,初次打击主要由于 IR 造成脂代谢紊乱,引起肝细胞脂肪变性,形成单纯性脂肪肝;第二次打击核心为以线粒体反应氧体系为核心的氧化应激和脂质过氧化对肝脏造成的进一步损害。现在越来越多的学者接受 NAFLD 的发生、发展与“多重打击”有关,其包括脂质代谢失衡、IR、炎症小体激活、内质网应激、肠道微生物失调及遗传学和表现遗传学变化^[10]。IR 是贯穿在 NAFLD 发生、发展中非常重要的因素,被认为是代谢综合征在肝脏上的表现^[11]。INS 是由胰岛 β 细胞分泌,可减少外周脂肪分解,从而降低血中 FFA 水平,而 IR 则会促进脂肪分解产生大量的 FFA,被肝脏摄取后合成 TG,导致肝脏脂肪变性,形成脂肪肝;当过多脂肪酸储存在肝脏时,便会诱发肝脏内线粒体功能和超微结构发生相应的变化,因此导致线粒体内呼吸链复合物的活性下降,积聚更多活性氧,使机体氧化脂肪增强,线粒体 DNA、呼吸链多肽遭到破

坏,核因子(NF- κ B)及肿瘤坏死因子(TNF- α)开始出现,导致肝脏出现炎症、坏死和纤维化的变化^[12]。TNF- α 过多的释放会通过抑制 INS 信号通路来实现 IR,因此二者可相互影响^[13]。LEP、APN 与 HOMA-IR 具有相关性,其可以很好地降低 IR。APN 作为 INS 的一种增敏激素,其可以增强骨骼肌细胞的脂肪酸氧化和提高糖的吸收能力,加强 INS 对肝糖异生的抑制作用,是机体内糖脂代谢稳态调控中的重要调节因子之一;LEP 是由脂肪细胞分泌的一种属于肥胖基因编码的分泌型激素,同样与 NAFLD 密切相关,LEP 抵抗可以促进 NAFLD 的发展^[14]。黄晓东等^[15]应用免疫组化方法研究 30 例 NAFLD 患者及对照组中 LEP、APN 的表达情况,发现 NAFLD 患者的血清 LEP 显著高于对照组,且其血清 APN 水平显著低于对照组。

对于 NASH 的治疗,目前尚无特效药物,现在临床上治疗 NASH 的药物主要包括 INS 增敏剂和降脂调酶类药物^[16],但治疗效果尚不理想。中医学多从症状、病因病机等方面命名,将 NASH 归属于“胁痛”“痞满”“肝胀”“肝痞”“肝癖”等范畴,其病因多由饮食不节、劳逸失度、情志失调、久病体虚、禀赋不足所导致,其发病是以肝体用失调、脾肾亏虚为主要特点,以痰、湿、浊、瘀、热为主要病理因素,所以其治疗以祛痰燥湿,清热化痰为主^[17]。茵陈蒿汤和苓桂术甘汤都始载于《伤寒论》,茵陈蒿汤功能清热利湿,利胆退黄;现代研究表明茵陈蒿汤能够有效针对 NAFLD 发病的“二次打击”机制调节高脂饮食诱导的大鼠脂质代谢紊乱和高胰岛素血症状态,增强抗氧化能力、清除自由基代谢产物,抑制脂质过氧化反应,从而达到治疗 NASH 的作用^[18]。苓桂术甘汤功能温阳化饮,健脾利湿;其是温化痰饮的代表方,正所谓“病痰饮者,当以温药和之。”痰饮为阴邪,遇寒则凝,得温则化,痰湿为

NASH 的主要病理因素,故合用苓桂术甘汤能提高 NASH 的疗效。茵陈苓桂剂的组成是在茵陈蒿汤合苓桂术甘汤的基础上加用绞股蓝等,其组成为:茵陈、栀子、大黄、茯苓、桂枝、白术、甘草、绞股蓝等。方中茵陈、栀子清湿热,利肝胆;茯苓健脾祛

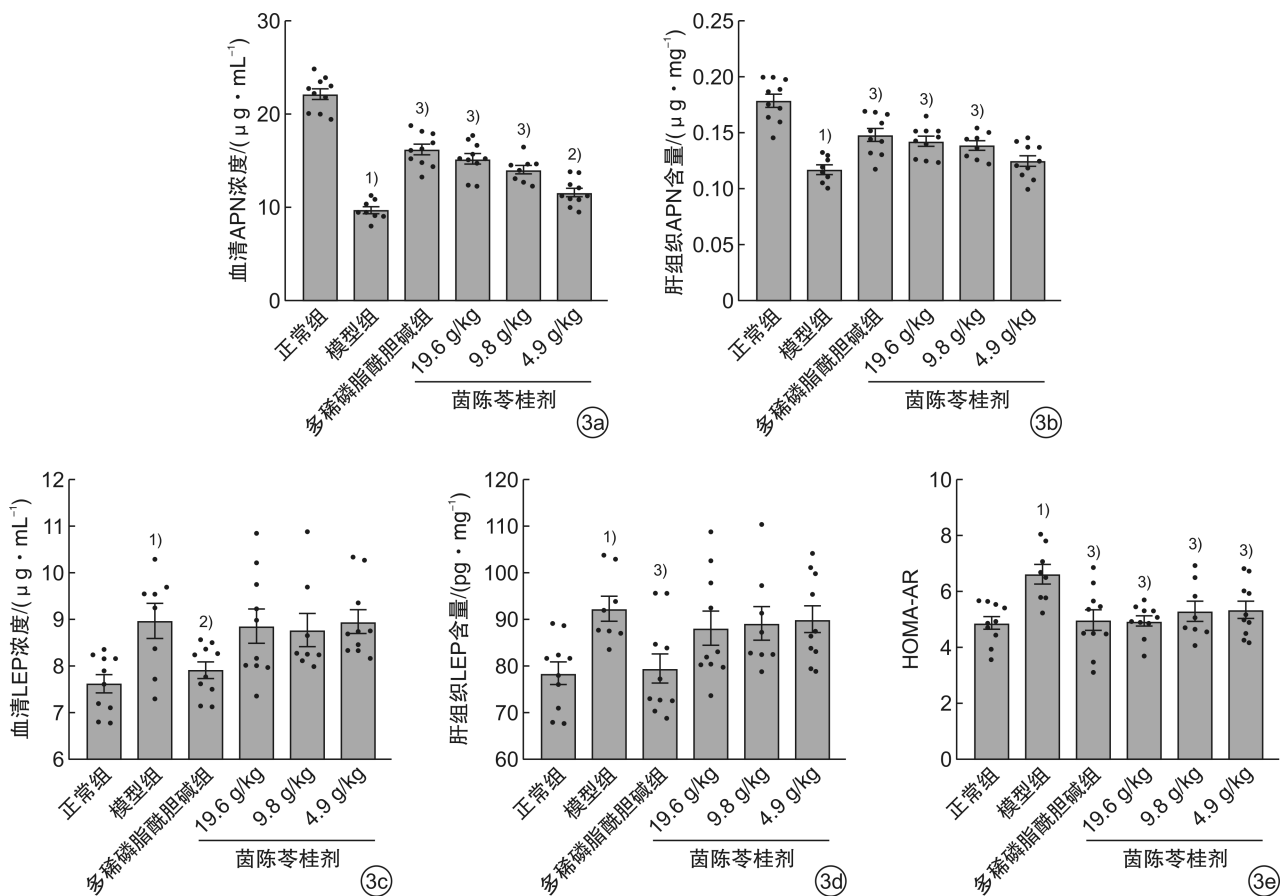
湿以助茵陈、栀子祛痰湿;桂枝、白术、甘草温阳健脾除湿;大黄荡涤肠胃瘀热;绞股蓝功能清热化痰、益气健脾,现代研究表明其对 NASH 有预防作用^[19]。全方功能清热利湿,疏肝利胆,并能化痰祛瘀。

表 4 茵陈苓桂剂干预对 NASH 大鼠血清和肝组织 LEP 水平及 HOMA-IR 值的影响

$\bar{x} \pm s$

组别	例数	血清 LEP/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	肝组织 LEP/($\text{pg} \cdot \text{mg}^{-1}$)	HOMA-IR
正常组	10	7.64 ± 0.61	78.52 ± 7.65	4.87 ± 0.73
模型组	8	$8.98 \pm 1.05^{1)}$	$92.21 \pm 7.43^{1)}$	$6.60 \pm 0.99^{1)}$
茵陈苓桂剂高剂量组	10	8.87 ± 1.13	87.99 ± 11.46	$4.94 \pm 0.58^{3)}$
茵陈苓桂剂中剂量组	8	8.78 ± 1.01	89.03 ± 10.24	$5.28 \pm 1.02^{3)}$
茵陈苓桂剂低剂量组	10	8.96 ± 0.79	89.87 ± 9.22	$5.34 \pm 0.97^{3)}$
多烯磷脂酰胆碱组	10	$7.93 \pm 0.55^{2)}$	$79.54 \pm 9.93^{3)}$	$4.97 \pm 1.19^{3)}$

与正常组比较,¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较,²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。



3a:血清 APN 浓度;3b:肝组织 APN 浓度;3c:血清 LEP 浓度;3d:肝组织 LEP 浓度;3e:HOMA-IR。正常组: $n=10$;模型组: $n=8$;多烯磷脂酰胆碱组: $n=10$;高剂量组: $n=10$;中剂量组: $n=8$;低剂量组: $n=10$ 。与正常组比较,¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较,²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

图 3 茵陈苓桂剂干预对 NASH 大鼠 LEP、APN 水平及 HOMA-IR 的影响

前期的临床研究表明茵陈苓桂剂能够有效改善 NASH 患者的临床症状、降低 CAP 值、改善肝脏影像学变化、改善肝功能、纠正脂质代谢紊乱^[5]。本研究通过建立 NASH 大鼠模型,运用茵陈苓桂剂高、中、低剂量进行干预,进一步研究其作用机

制。实验结果表明:各剂量茵陈苓桂剂均能有效降低 NASH 大鼠肝指数、HOMA-IR 值及其血清 AST、T-CHO 水平($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),且能明显改善 NASH 大鼠血清 APN 水平($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);高、中剂量茵陈苓桂剂能有效改善

NASH大鼠血清ALT、TG水平($P<0.01$ 或 $P<0.05$),并使其肝组织匀浆APN水平显著升高($P<0.01$);高剂量茵陈苓桂剂能显著降低NASH大鼠血清FFA水平($P<0.01$)。茵陈苓桂剂对于NASH大鼠血清及肝组织匀浆LEP水平的影响差异无统计学意义($P>0.05$)。

综上所述,在高脂饲料诱导的NASH大鼠的模型中,茵陈苓桂剂可保护NASH大鼠的肝功能,降低肝酶、血脂,其机制可能是增加APN的表达,降低IR,减少FFA的产生,抑制血脂升高,进一步减少肝脏对脂质的摄取,而对肝脏起到保护作用从而达到治疗NASH的目的。对于NAFLD的发生、发展,许多学者认为其与肠道菌群失调密切相关^[20-21]。对此,本研究尚未涉及,我们拟运用16 s联合宏基因组测序及代谢组学技术,采取进一步的研究,以探究茵陈苓桂剂对NASH大鼠肠道菌群的影响,为茵陈苓桂剂临床治疗NASH提供更多的依据。

参考文献

- [1] 李军祥,陈諱,王允亮.非酒精性脂肪性肝病中西医结合诊疗共识意见(2017年)[J].中国中西医结合消化杂志,2017,25(11):805-811.
- [2] Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review[J]. JAMA, 2015, 313(22): 2263-2273.
- [3] Diehl AM, Day C. Cause, pathogenesis, and treatment of nonalcoholic steatohepatitis[J]. N Engl J Med, 2017, 377(21): 2063-2073.
- [4] Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes[J]. Hepatology, 2016, 64(1): 73-84.
- [5] 吴迪,李军祥,谢春娥.基于肝脏超声衰减参数观察茵陈苓桂剂干预非酒精性脂肪性肝炎的作用研究[J].中国中西医结合消化杂志,2018,26(10):817-822.
- [6] 谢博文,李蓓蕾,胡鹏言,等.非酒精性脂肪性肝病动物模型研究进展[J].广西中医药大学学报,2018,21(4):65-67.
- [7] Cote I, Ngo Sock ET, Levy E, et al. An atherogenic diet decreases liver FXR gene expression and causes severe hepatic steatosis and hepatic cholesterol accumulation: effect of endurance training[J]. Euro J Nutrition, 2013, 52(5): 1523-1532.
- [8] 王春花,靳丽颖,王思萌.非酒精性脂肪性肝病动物模型研究进展[J].中国兽医杂志,2018,54(5):62-65.
- [9] 郭一,李军祥,毛堂友,等.自噬相关蛋白在高脂饲料诱导的非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝脏中的表达及茵陈苓桂术甘汤的干预效应[J].中华中医药学刊,2018,36(4):798-801.
- [10] 樊亚东,贾建伟,张晓雨.非酒精性脂肪性肝病发病机制和临床研究进展[J].中西医结合肝病杂志,2020,30(1):93-96.
- [11] Kanwar P, Kowdley KV. The Metabolic Syndrome and Its Influence on Nonalcoholic Steatohepatitis[J]. Clin Liver Dis, 2015, 20(2): 225-243.
- [12] Cusi K. Role of obesity and lipotoxicity in the development of non-alcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications[J]. Gastroenterology, 2012, 142(4): 711-725.
- [13] Zhang X, Xu A, Chung SK, et al. Selective inactivation of c-Jun NH2-terminal kinase in adipose tissue protects against diet-induced obesity and improves insulin sensitivity in both liver and skeletal muscle in mice[J]. Diabetes, 2011, 60: 486-495.
- [14] 蔡冰,周永健.脂联素及其在非酒精性脂肪性肝病的作用研究进展[J].广州医药,2014,45(1):80-82.
- [15] 黄晓东.瘦素及脂联素在非酒精性脂肪肝中的表达及意义[D].武汉:武汉大学,2015.
- [16] 罗冬梅,陶艳艳,刘成海.非酒精性脂肪性肝炎发病机制和治疗研究进展[J].肝脏,2020,25(9):1013-1017.
- [17] 中华中医药学会脾胃病分会.非酒精性脂肪性肝病中医诊疗专家共识意见(2017)[J].中医杂志,2017,58(19):1706-1710.
- [18] 刘莹,张会存,段娜,等.茵陈蒿汤对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝炎的药效学观察[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(13):217-222.
- [19] 余轶群,陈希,李军祥.绞股蓝、生山楂水提物对非酒精性脂肪性肝炎大鼠脂质代谢相关因子的调控作用研究[J].辽宁中医药大学学报,2012,14(7):168-170.
- [20] 潘勤,范建高.肠源性高血氨在非酒精性脂肪性肝炎发病中的作用[J].实用肝脏病杂志,2020,23(6):761-764.
- [21] Suk KT, Kim DJ. Gut microbiota: Novel therapeutic target for nonalcoholic fatty liver disease[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 13(3): 193-204.

(收稿日期:2020-12-25)