

# 金丝桃苷调控肝脏脂质合成改善小鼠非酒精性脂肪性肝病的机制研究<sup>Δ</sup>

龙昌锐<sup>1,2\*</sup>, 乡世健<sup>2,3</sup>, 张振华<sup>2,3</sup>, 吴辉星<sup>2,3</sup>, 周本杰<sup>2,3</sup>, 鲁澄宇<sup>1#</sup> (1. 广东医科大学药学院, 广东 东莞 523808; 2. 深圳市中药活性物质筛选与转化重点实验室, 广东 深圳 518107; 3. 中山大学附属第七医院药学部, 广东 深圳 518107)

中图分类号 R965;R575 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)06-0668-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.06.05



**摘要** **目的** 研究金丝桃苷(HYP)对非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的改善作用机制。**方法** 将雄性C57BL/6小鼠随机分为正常(NFD)组、模型(HFD)组、HYP组,每组8只。除NFD组外,其余组小鼠喂养HF60高脂饲料诱导NAFLD模型,同时HYP组小鼠每日灌胃100 mg/kg的HYP,持续16周。末次给药16 h后,记录各组小鼠体重、肝脏质量,观察肝脏病理形态学变化及脂质堆积情况,检测肝脏中甘油三酯(TAG)含量和血清中TAG、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)含量;采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法检测小鼠肝脏的脂质变化,进行脂质组学分析,并检测脂质合成相关蛋白过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$ (PPAR $\alpha$ )蛋白的表达情况。将人源肝癌细胞株HepG2分为正常对照组、模型组、HYP低浓度(50  $\mu$ mol/L)组、HYP高浓度(100  $\mu$ mol/L)组、HYP低浓度+GW6471(PPAR $\alpha$ 抑制剂)组和HYP高浓度+GW6471组,除正常对照组外,其余细胞采用油酸、棕榈酸诱导构建高脂细胞模型,观察各组细胞脂滴蓄积情况,检测其中的TAG含量。**结果** 与HFD组比较,HYP组小鼠肝脏脂肪空泡、脂质堆积、肝脏质量和TAG含量,以及血清中ALT、AST、TAG含量均明显减少,肝组织中PPAR $\alpha$ 蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ );NAFLD病理形态学变化均有所缓解。脂质组学分析发现HYP能降低肝脏中TAG、二酰甘油等脂质代谢物的相对水平。与模型组比较,HYP低、高浓度组细胞中脂滴蓄积和TAG含量均明显减少,GW6471能显著逆转HYP对上述指标的改善作用( $P<0.05$ )。**结论** HYP可有效改善高脂饲料诱导的小鼠NAFLD,其机制可能与激活PPAR $\alpha$ 从而调控肝脏脂质合成有关。

**关键词** 金丝桃苷;非酒精性脂肪性肝病;脂质合成;脂质组学;PPAR $\alpha$

## Study on the mechanism of hyperoside regulating hepatic lipid synthesis to ameliorate non-alcoholic fatty liver disease in mice

LONG Changrui<sup>1,2</sup>, XIANG Shijian<sup>2,3</sup>, ZHANG Zhenhua<sup>2,3</sup>, WU Huixing<sup>2,3</sup>, ZHOU Benjie<sup>2,3</sup>, LU Chengyu<sup>1</sup> (1. School of Pharmacy, Guangdong Medical University, Guangdong Dongguan 523808, China; 2. Shenzhen Key Laboratory of Active Substances Screening and Transformation of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Shenzhen 518107, China; 3. Dept. of Pharmacy, the Seventh Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangdong Shenzhen 518107, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To investigate the improvement mechanism of hyperoside (HYP) on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **METHODS** Male C57BL/6 mice were randomly divided into normal (NFD) group, model (HFD) group and HYP group, with 8 mice in each group. Except for NFD group, the mice in other groups were fed with HF60 high-fat diet to establish NAFLD model; HYP group was simultaneously given HYP 100 mg/kg intragastrically every day, for 16 consecutive weeks. The body weight and liver weight of mice in each group were recorded 16 h after the last medication; the histopathological changes and lipid accumulation in the liver were observed, and the contents of triglyceride (TAG) in liver tissue and serum contents of TAG, aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) were measured; LC-MS/MS method was adopted to detect lipid

changes in the liver tissue of mice for lipidomics analysis, and protein expressions of lipid synthesis-associated proteins peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) were also tested. Human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 was divided into normal control group, model group, HYP low-concentration group (50  $\mu$ mol/L), HYP high-concentration group (100  $\mu$ mol/L), HYP low-concentration+GW6471 (PPAR $\alpha$

**Δ 基金项目** 国家自然科学基金项目(No.82074078);广东省基础与应用基础研究基金项目(No.2022A1515220027);深圳市科技计划项目(No.ZDSYS20220606100801003)

\* 第一作者 硕士研究生。研究方向:代谢组学与肝纤维化。E-mail: LongChR@gdmu.edu.cn

# 通信作者 教授,硕士生导师,博士。研究方向:药效学与药代动力学。E-mail: luchengyu@gdmc.edu.cn

inhibitor) group, and HYP high-concentration+GW6471 group. Except for normal control group, the remaining cells were induced with oleic acid and palmitic acid to establish a high-fat cell model. The accumulation of lipid droplets in each group of cells was observed, and the TAG content was detected. **RESULTS** Compared with HFD group, HYP group exhibited significant reductions in liver fat vacuoles, lipid accumulation, liver weight, and TAG content in liver tissue, as well as serum contents of ALT, AST and TAG ( $P<0.05$ ). Additionally, the expression of PPAR $\alpha$  protein in liver tissue was significantly increased ( $P<0.05$ ), and the pathological morphological changes associated with NAFLD were alleviated. Lipidomic analysis revealed that HYP significantly reduced the levels of TAG, diacylglycerol and other lipids in the liver. Compared with model group, cellular lipid droplet accumulation and TAG content decreased significantly in HYP low- and high-concentration groups ( $P<0.05$ ); GW6471 could significantly reverse the improvement effect of HYP on above indicators ( $P<0.05$ ). **CONCLUSIONS** HYP can effectively ameliorate NAFLD induced by a high-fat diet in mice, and the mechanism may be related to the activation of PPAR $\alpha$  to regulate hepatic lipid synthesis.

**KEYWORDS** hyperoside; non-alcoholic fatty liver disease; lipid synthesis; lipidomics; PPAR $\alpha$

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是全球最常见的慢性肝病,其特征是肝脏中甘油三酯(triglyceride, TAG)沉积过多,常与代谢综合征、2型糖尿病、肥胖及心血管疾病密切相关<sup>[1]</sup>。由于肥胖症的急剧增加,NAFLD已成为全球最普遍的肝病<sup>[2]</sup>。NAFLD的发病机制复杂,且存在多种致病因素,而TAG的肝脏蓄积是NAFLD发生发展的第一步<sup>[3]</sup>。目前,临床治疗NAFLD的药物主要是瑞司美替罗(resmetirom),但该药物尚未在国内上市,且价格高昂,许多患者家庭很难承受。中医药在治疗肝脏相关疾病方面有着悠久的历史,由于其具有疗效好、副作用少、安全性高、经济性好等优点,有望成为NAFLD的有效治疗药物来源<sup>[4]</sup>。

金丝桃苷(hyperoside, HYP),又名槲皮素-3-*O*- $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷,是一种黄酮糖苷类化合物,具有良好的抗炎和抗氧化作用<sup>[5]</sup>。脂质组学是一种检查内源性脂质代谢变化的有效工具,其可通过先进的实验技术和多变量统计分析策略,全面表征脂质的种类、结构、丰度及其在生物过程中的动态变化,研究生物系统中生物活性脂质的复杂代谢情况。过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$ (peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , PPAR $\alpha$ )是脂质代谢中承上启下的关键靶点。基于此,本研究利用脂质组学技术,探究了HYP基于PPAR $\alpha$ 途径对NAFLD改善作用的机制,旨在为HYP及NAFLD治疗药物的开发提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有KF-PRO-020型数字病理切片扫描仪(宁波江丰生物信息技术有限公司)、Tanon 5200型全自动化学发光图像分析系统(上海天能生命科学生物有限公司)、QuantStudio 6型实时荧光定量聚合

酶链式反应(PCR)仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、Triple Quad<sup>TM</sup> 5500型液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)系统(美国 AB Sciex 公司)、全自动倒置荧光显微镜(宁波舜宇仪器有限公司)、800TS-SN型酶标仪(安捷伦科技有限公司)等。

### 1.2 主要药品与试剂

HYP对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,批号 CHB201123)购自成都克洛玛生物技术有限公司;SPF级 HF60高脂饲料(批号为 20231010)购自戴茨生物科技(无锡)有限公司;实验用高脂细胞添加剂(含棕榈酸 6 mmol/L、油酸 12 mmol/L,批号 20240510-2)购自西安鲲鹏科技发展有限公司;逆转录预混液试剂(去基因组)(批号 A4A1228)购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;荧光定量试剂盒(含校正液)(批号 A5A4013)购自杭州博日科技股份有限公司;鼠源甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)单克隆抗体(批号 62u0922)购自江苏亲科生物研究中心有限公司;兔源 PPAR $\alpha$ 多克隆抗体(批号 159429)购自英国 Abcam 公司;PPAR $\alpha$ 抑制剂 GW6471(批号 159429)购自美国 TargetMol Chemicals Inc 公司;丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)试剂盒、天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)试剂盒、TAG试剂盒(批号分别为 20240416、20240417、20240612)均购自南京建成生物工程研究所有限公司;超敏型细胞增强检测试剂(批号 AE1313)购自亚科因(武汉)生物技术有限公司;改良油红 O染色试剂盒(批号 Z907240905)购自上海碧云天生物技术有限公司;甲醇和乙腈(批号分别为 11176407147、JB127130)均购自美国 Supelco 公司;异丙醇(批号 C14591033)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;引物序列购自睿博兴科生物技术有限公司。

### 1.3 实验细胞与动物

人源肝癌细胞株 HepG2 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

SPF 级 7 周龄 C57BL/6 小鼠, 24 只, 雄性, 体重  $(20 \pm 2)$  g, 购于珠海百试通生物科技有限公司, 生产许可证号为 SCXK(粤)2022-0051。所有小鼠饲养于深圳华腾生物医药科技有限公司, 使用许可证号为 SYXK(粤)2023-0327。饲养环境为 SPF 屏障环境, 温度为  $(22 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ , 12 h 光照与 12 h 黑暗交替循环。饲养过程中, 小鼠自由摄入食物和水。本研究实验方案获得了深圳华腾生物医药有限公司实验动物伦理委员会批准(批准编号为 B202404-4)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组、给药与造模

将小鼠随机分为 3 组, 每组 8 只: 正常(NFD)组小鼠给予 SPF 级常规维持饲料饲养; 模型(HFD)组和 HYP 组小鼠给予 SPF 级 HF60 高脂饲料饲养 16 周以复制 NAFLD 模型。其中, HYP 组小鼠从造模第 1 天开始每天早上灌胃 100 mg/kg HYP(溶剂为 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液)<sup>[9]</sup>, NFD 组和 HFD 组小鼠灌胃等体积溶剂, 连续 16 周; 所有小鼠自由饮食。

### 2.2 样本收集与处理

末次给药后, 小鼠禁食不禁水 16 h, 然后记录体重, 麻醉并摘眼球取血, 于  $4^{\circ}\text{C}$ 、3 000 r/min 离心 15 min, 取血清, 用于后续检测。小鼠取血后通过颈椎脱臼处死, 分离肝脏, 称定肝脏质量, 并用于后续检测。

### 2.3 小鼠肝脏病理形态学及脂质堆积观察

取各组小鼠肝脏, 经脱水、石蜡包埋后切片, 进行苏木精-伊红(HE)染色, 观察其病理形态学变化; 经 OCT 包埋剂包埋后冷冻切片, 进行油红 O 染色, 观察其脂质堆积情况。

### 2.4 小鼠生化指标检测

取各组小鼠肝组织适量, 按相应试剂盒说明书方法检测其中 TAG 的含量。取各组小鼠血清适量, 按相应试剂盒说明书方法检测血清中 AST、ALT、TAG 的含量。

### 2.5 小鼠肝脏脂质组学分析

每组随机选取 6 只小鼠的肝脏进行脂质组学分析。精确称取肝脏 20 mg, 置于 1.5 mL EP 管中, 充分匀浆, 加入 800  $\mu\text{L}$  甲基叔丁基醚-甲醇溶液(3:1, *V/V*), 涡旋 30 s; 于  $-20^{\circ}\text{C}$  静置 1 h 后, 加入水 200  $\mu\text{L}$ , 涡旋 30 s; 于  $4^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min, 取上层脂质提取液, 真空浓缩, 加入异丙醇 100  $\mu\text{L}$  复溶, 涡旋 30 s; 于  $4^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液进样。每个样品提取 5  $\mu\text{L}$

混合成质控样品<sup>[7]</sup>。每隔 6 个样品插入 1 个质控样品进行分析, 使用 LC-MS/MS 系统进样检测, 组间差异利用正交偏最小二乘判别法分析。以  $|\text{Fold Change 值}| \geq 2$ ,  $P < 0.1$  为筛选条件, 分析各组之间的差异脂质代谢物。以  $|\text{变量重要性投影(variable importance projection, VIP) 值}| > 1$  为筛选条件, 评估脂质代谢物不同组别的贡献程度, 取排名前 15 位的脂质代谢物进行分析。

### 2.6 小鼠肝组织中 PPAR $\alpha$ 蛋白表达检测

取各组小鼠肝组织适量, 加入研磨珠和裂解液充分匀浆后, 于  $4^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 进行 BCA 蛋白定量、变性; 选取蛋白样本进行电泳、转膜, 常温下封闭 1.5 h, 加入 PPAR $\alpha$ 、GAPDH 抗体(稀释比例均为 1:1 000)孵育过夜; 加入二抗(稀释比例为 1:8 000), 于室温孵育 1 h 后, 用 TBST 洗膜 3 次, 滴加显色液后应用化学发光图像分析系统显影。采用 Image J 软件分析蛋白条带的灰度值, 以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平, 结果以 NFD 组为参照进行归一化处理。

### 2.7 金丝桃苷介导 PPAR $\alpha$ 调控脂质合成的机制验证

#### 2.7.1 细胞培养

将 HepG2 细胞接种于含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素双抗的 DMEM 培养基中, 于  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的条件下培养。

#### 2.7.2 HYP 干预浓度筛选

采用 CCK-8 法检测细胞活力。取 HepG2 细胞, 以 5 000 个/孔接种到 96 孔板中, 用 0、10、100、1 000  $\mu\text{mol/L}$  的 HYP 干预, 并设置含细胞、不含药物的阴性对照组, 不含细胞和药物的空白对照组。处理 24 h 后, 每孔加入不含血清的 DMEM 培养基 180  $\mu\text{L}$  和 CCK-8 试剂 20  $\mu\text{L}$ , 于  $37^{\circ}\text{C}$  下避光孵育 2 h, 使用酶标仪在 450 nm 波长下检测每孔的吸光度(*A*)值, 并按下式计算细胞活力: 细胞活力 =  $(\text{不同浓度 HYP 组的 } A \text{ 值} - \text{空白对照组的 } A \text{ 值}) / (\text{阴性对照组的 } A \text{ 值} - \text{空白对照组的 } A \text{ 值}) \times 100\%$ , 根据结果筛选后续细胞实验 HYP 的干预浓度。

#### 2.7.3 细胞脂滴蓄积情况和 TAG 含量检测

将 HepG2 细胞分为正常对照组、模型组、HYP 低浓度(50  $\mu\text{mol/L}$ )组<sup>[8]</sup>、HYP 高浓度(100  $\mu\text{mol/L}$ )组<sup>[8]</sup>、HYP 低浓度+GW6471 组、HYP 高浓度+GW6471 组, 每组 3 个复孔。除正常对照组外, 其他各组细胞均采用 400 mmol/L 的油酸和 200 mmol/L 的棕榈酸诱导 24 h 模拟肝脂质沉积; 此外, HYP 低、高浓度组细胞分别用 50、100  $\mu\text{mol/L}$  的 HYP 干预 24 h; HYP 低浓度+GW6471 组和 HYP 高浓度+GW6471 组细胞在使用 50、100  $\mu\text{mol/L}$  的

HYP干预前先用10 mmol/L的GW6471干预24 h<sup>[9]</sup>。随后,按相应试剂盒说明书方法进行操作:经油红O染色后使用显微镜观察细胞内的脂滴蓄积情况,用Image J软件分析单位面积内的脂滴,并计算相对脂滴面积占比;检测细胞内TAG含量。

2.8 统计学方法

采用GraphPad Prism 8软件进行统计学分析和图表绘制。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐时组间两两比较采用LSD-*t*检验,方差不齐时组间两两比较则采用Tamhane's *T*<sub>2</sub>检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 各组小鼠体重和肝脏质量测定结果

与NFD组比较,HFD组小鼠的体重和肝脏质量均显著升高( $P<0.05$ );与HFD组比较,HYP组小鼠的体重差异无统计学意义,肝脏质量显著降低( $P<0.05$ )。结果见表1。

表1 各组小鼠体重和肝脏质量比较( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

| 组别   | 体重/g                    | 肝脏质量/g                 |
|------|-------------------------|------------------------|
| NFD组 | 30.84±1.70              | 1.17±0.17              |
| HFD组 | 36.78±1.76 <sup>a</sup> | 1.45±1.14 <sup>a</sup> |
| HYP组 | 36.61±2.38              | 1.14±0.16 <sup>b</sup> |

a: 与NFD组比较, $P<0.05$ ;b: 与HFD组比较, $P<0.05$ 。

3.2 各组小鼠肝组织病理形态学及脂质堆积观察结果

HE染色结果显示,与NFD组比较,HFD组小鼠肝脏可见较多的脂肪空泡和炎症细胞浸润,肝索不清晰,肝小叶结构模糊;与HFD组比较,HYP组小鼠的病理形态学变化均有所缓解,脂肪空泡数量明显减少。油红O染色结果显示,与NFD组比较,HFD组小鼠肝脏中的脂质堆积明显增加;与HFD组比较,HYP组小鼠肝脏中的脂质堆积明显减少。结果见图1。

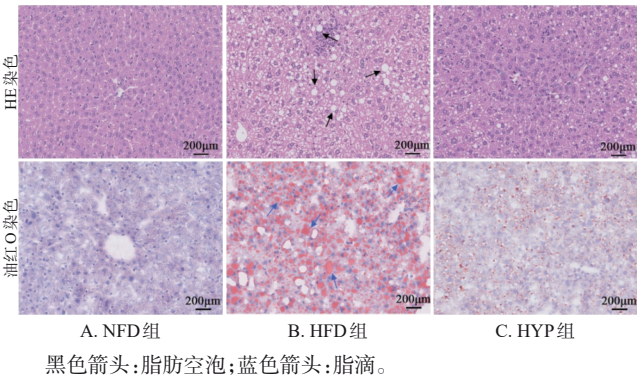


图1 各组小鼠肝脏病理显微图(HE染色和油红O染色)

3.3 各组小鼠生化指标检测结果

与NFD组比较,HFD组小鼠血清中AST、ALT、TAG含量和肝组织中TAG含量均显著升高( $P<0.05$ );与HFD组比较,HYP组小鼠血清中AST、ALT、TAG含量和肝组织中TAG含量均显著降低( $P<0.05$ )。结果

见表2。

表2 各组小鼠生化指标比较( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

| 组别   | 血清AST/(U/L)              | 血清ALT/(U/L)              | 血清TAG/(mmol/L)         | 肝组织TAG/(mmol/g prot)    |
|------|--------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|
| NFD组 | 52.77±7.34               | 5.94±2.85                | 1.32±0.29              | 9.04±3.25               |
| HFD组 | 67.56±14.73 <sup>a</sup> | 39.58±14.66 <sup>a</sup> | 2.38±0.28 <sup>a</sup> | 25.20±5.04 <sup>a</sup> |
| HYP组 | 46.75±12.12 <sup>b</sup> | 23.16±10.96 <sup>b</sup> | 1.76±0.33 <sup>b</sup> | 10.51±2.88 <sup>b</sup> |

a: 与NFD组比较, $P<0.05$ ;b: 与HFD组比较, $P<0.05$ 。

3.4 各组小鼠脂质代谢差异分析结果

正交偏最小二乘判别分析结果显示,NFD组与HFD组、HFD组与HYP组组间区分明显,说明各组间肝脏脂质组成存在差异,结果见图2。

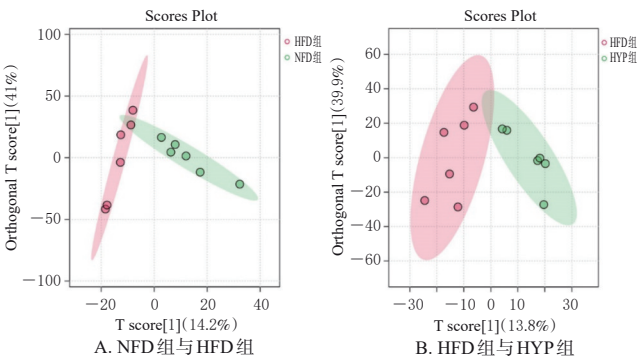


图2 各组小鼠肝脏脂质组学的正交偏最小二乘判别分析结果

分析各组之间的差异脂质代谢物发现,NFD组和HFD组共有139个差异脂质代谢物,其中73个脂质代谢物上调,66个脂质代谢物下调;HFD组和HYP组共有199个差异脂质代谢物,其中13个脂质代谢物上调,186个脂质代谢物下调。评估脂质代谢物不同组别的贡献程度发现,HFD组上调的脂质类型涉及TAG、鞘磷脂(sphingomyelin, SM)、二酰甘油(diacylglycerol, DAG)等;HYP组下调的脂质代谢物类型主要涉及TAG、DAG等。结果见图3。

对NFD组、HFD组和HYP组差异脂质代谢物的交集进行分析发现,HFD组主要上调了TAG、DAG等脂质代谢物的相对水平;而HYP组能够降低TAG、DAG等脂质代谢物的相对水平,从而改善肝脏脂质堆积。

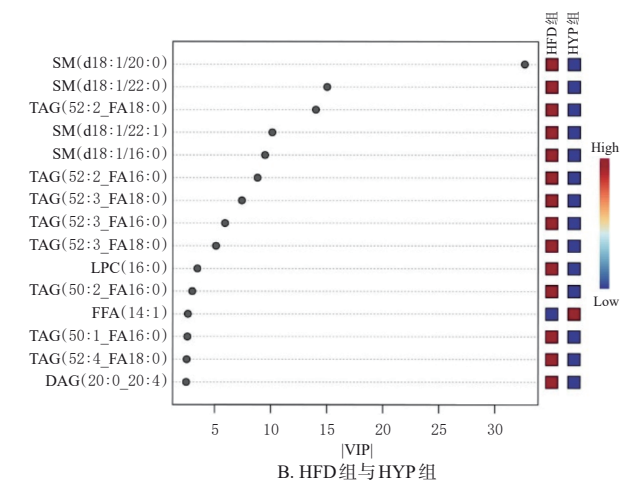
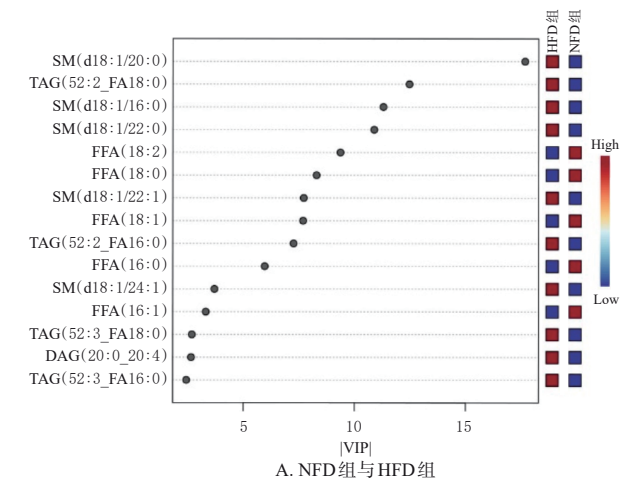
3.5 各组小鼠肝组织中PPARα蛋白表达检测结果

与NFD组比较,HFD组小鼠肝组织中PPARα蛋白表达水平显著降低(1.00 vs. 0.59±0.07,  $P<0.05$ );与HFD组比较,HYP组小鼠肝组织中PPARα蛋白表达水平显著升高(0.59±0.07 vs. 1.11±0.04,  $P<0.05$ )。结果见图4。

3.6 HYP介导PPARα调控脂质合成的机制验证结果

3.6.1 HYP干预浓度筛选结果

HepG2细胞用0、10、100、1 000 μmol/L HYP干预后其细胞活力分别为(1.00±0.11)%、(1.02±0.48)%、



FA: 单不饱和脂肪酸; FFA: 游离脂肪酸; LPC: 溶血磷脂酰胆碱。  
图3 各组小鼠肝脏中|VIP|值|排名前15的脂质代谢物类型

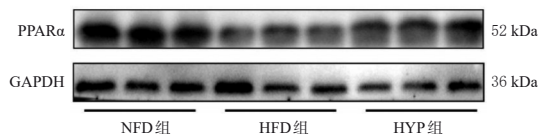


图4 各组小鼠肝组织中PPAR $\alpha$ 蛋白表达的电泳图 ( $n=3$ )

( $1.00 \pm 0.07$ )%、( $0.95 \pm 0.38$ )%, 各组细胞活力差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 表明 0、10、100、1 000  $\mu\text{mol/L}$  浓度范围内的 HYP 对细胞活力没有不利影响。结合相关文献<sup>[8]</sup>, 本研究选择 50、100  $\mu\text{mol/L}$  作为后续细胞实验 HYP 的低、高浓度。

### 3.6.2 HYP 通过调控 PPAR $\alpha$ 影响脂滴蓄积

与正常对照组比较, 模型组细胞中脂滴蓄积显著增加 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, HYP 低、高浓度组细胞中脂滴蓄积均显著减少 ( $P < 0.05$ ); 与 HYP 低浓度组比较, HYP 低浓度+GW6471 组细胞中脂滴蓄积显著增加 ( $P < 0.05$ ); 与 HYP 高浓度组比较, HYP 高浓度+GW6471 组细胞中脂滴蓄积显著增加 ( $P < 0.05$ )。结果见图 5 和表 3。

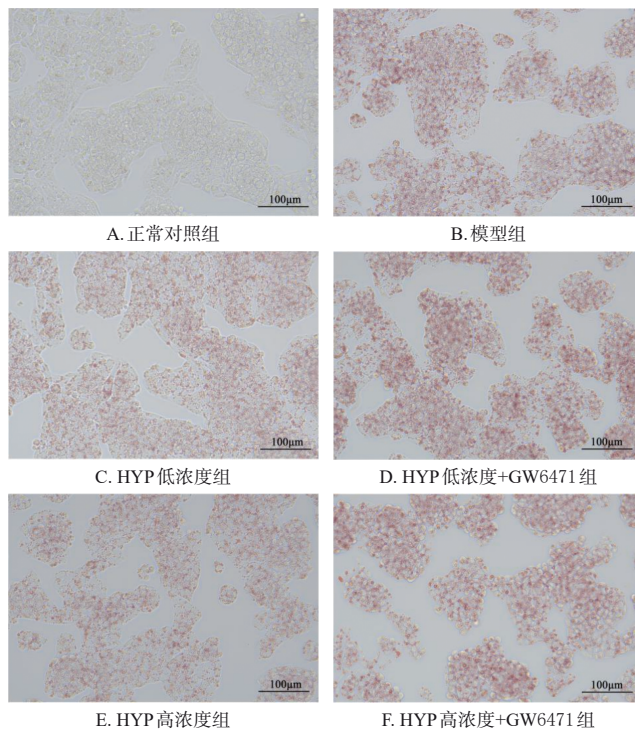


图5 各组细胞中脂滴蓄积的显微图(油红 O 染色)

表3 各组细胞中相对脂滴面积占比和 TAG 含量比较 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| 组别               | 相对脂滴面积占比/%         | TAG/(mmol/g prot) |
|------------------|--------------------|-------------------|
| 正常对照组            | $1.90 \pm 1.11$    | $0.12 \pm 0.02$   |
| 模型组              | $23.43 \pm 3.25^a$ | $0.54 \pm 0.01^a$ |
| HYP 低浓度组         | $8.15 \pm 2.63^b$  | $0.38 \pm 0.01^b$ |
| HYP 高浓度组         | $8.93 \pm 1.26^b$  | $0.37 \pm 0.02^b$ |
| HYP 低浓度+GW6471 组 | $26.60 \pm 4.41^c$ | $0.54 \pm 0.01^c$ |
| HYP 高浓度+GW6471 组 | $20.05 \pm 6.66^d$ | $0.51 \pm 0.01^d$ |

a: 与正常对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与 HYP 低浓度组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与 HYP 高浓度组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3.6.3 HYP 通过调控 PPAR $\alpha$ 影响 TAG 含量

与正常对照组比较, 模型组细胞中 TAG 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, HYP 低、高浓度组细胞中 TAG 含量均显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与 HYP 低浓度组比较, HYP 低浓度+GW6471 组细胞中 TAG 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与 HYP 高浓度组比较, HYP 高浓度+GW6471 组细胞中 TAG 含量显著升高 ( $P < 0.05$ )。结果见表 3。

## 4 讨论

NAFLD 是全球最常见的慢性肝病, 其特征是肝脏中 TAG 蓄积过多, 并与肥胖、胰岛素抵抗、血脂异常和炎症疾病相关。NAFLD 的发病机制复杂, 脂质代谢在 NAFLD 病理过程中发挥了重要作用, 具有调节脂质代谢和肝保护作用的中医药成分在 NAFLD 治疗中具有独特的效果<sup>[10]</sup>。其中, HYP 能够减少氧化应激和炎症反应<sup>[5]</sup>, 在体外和体内研究中均显示出对肝细胞的保护作用, 能减少肝细胞的凋亡和坏死, 抑制肝纤维化的进程,

在多种肝脏疾病模型中均显示出治疗潜力<sup>[11]</sup>,但应用于NAFLD的效果和机制尚不明确。本研究结果显示,与HFD组比较,HYP组小鼠的肝脏脂肪变性、空泡化明显改善,脂滴数量和脂质堆积均明显减少,血清中ALT、AST含量均显著降低,表明HYP对NAFLD具有良好的改善作用。脂质组学分析结果显示,高脂饮食导致小鼠肝脏中TAG含量明显升高,这与早期的报道一致,即NAFLD的特征是肝内TAG沉积过多,导致肝细胞功能障碍、发生炎症和纤维化<sup>[3]</sup>,而HYP可显著下调小鼠肝脏TAG、DAG水平,提示HYP改善小鼠NAFLD的机制涉及脂质合成过程。PPAR是一类核受体转录因子,其中的PPAR $\alpha$ 在调节脂质代谢和脂肪细胞分化方面具有重要作用<sup>[12]</sup>。PPAR $\alpha$ 被激活后,能促进脂肪酸氧化基因的表达,抑制脂质合成,从而改善NAFLD<sup>[13]</sup>。本研究结果显示,与NFD组比较,HFD组小鼠肝组织中参与脂肪分解代谢的PPAR $\alpha$ 蛋白表达水平显著降低,血清和肝组织中TAG含量显著升高,提示高脂饮食诱导小鼠肝脏脂质堆积可能与PPAR $\alpha$ 表达水平有关。与HFD组比较,HYP组小鼠肝组织中PPAR $\alpha$ 蛋白表达水平显著升高,血清和肝组织中TAG含量显著降低,表明HYP可能通过抑制脂质合成基因的表达来降低肝组织中TAG含量。为了进一步验证HYP是否通过调控PPAR $\alpha$ 介导NAFLD小鼠肝脏脂质合成途径从而发挥改善NAFLD的作用,本研究利用HepG2细胞进行了研究。结果发现,与正常对照组比较,模型组细胞中脂滴蓄积和TAG含量均显著增加;与模型组比较,HYP低、高浓度组细胞中脂滴蓄积和TAG含量均显著减少;而PPAR $\alpha$ 抑制剂GW6471能显著逆转HYP对上述指标的改善作用,表明PPAR $\alpha$ 是HYP改善NAFLD的关键靶点。

综上,HYP能有效改善高脂饲料诱导的小鼠NAFLD,其机制可能与激活PPAR $\alpha$ 从而调控肝脏脂质合成有关。

## 参考文献

- [1] HODSON L, GUNN P J. The regulation of hepatic fatty acid synthesis and partitioning: the effect of nutritional state[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(12):689-700.
- [2] TARGHER G, LONARDO A, BYRNE C D. Nonalcoholic fatty liver disease and chronic vascular complications of diabetes mellitus[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(2):99-114.
- [3] DAY C P, JAMES O F W. Steatohepatitis: a tale of two "hits"?[J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4):842-845.
- [4] ZHANG S B, WU Z Q, SHI L, et al. 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxy-stilbene-2-O- $\beta$ -D-glucoside ameliorates NAFLD via attenuating hepatic steatosis through inhibiting mitochondrial dysfunction dependent on SIRT5[J]. *Phytomedicine*, 2022, 99:153994.
- [5] XIAO R, XIANG A L, PANG H B, et al. Hyperoside protects against hypoxia/reoxygenation induced injury in cardiomyocytes by suppressing the BNIP3 expression[J]. *Gene*, 2017, 629:86-91.
- [6] GUO X, ZHU C Z, LIU X J, et al. Hyperoside protects against heart failure-induced liver fibrosis in rats[J]. *Acta Histochem*, 2019, 121(7):804-811.
- [7] HONG Y Z, SHEN M Y, YU Q, et al. UPLC-Q-TOF/MS-based metabolomics reveals modulatory effects of *Mesona chinensis* Benth polysaccharide in liver injury mice induced by cyclophosphamide[J]. *Food Sci Hum Wellness*, 2023, 12(2):584-595.
- [8] 吴琼, 崔利, 张大伟, 等. 金丝桃苷对高糖诱导海马HT22细胞氧化应激介导的神经元凋亡的保护作用研究[J]. *贵州医药*, 2023, 47(1):3-5.  
WU Q, CUI L, ZHANG D W, et al. Protective effect of hyperoside on high glucose-induced oxidative stress-mediated neuronal apoptosis in hippocampal HT22 cells[J]. *Guizhou Med J*, 2023, 47(1):3-5.
- [9] LI Q, ZHANG W, CHENG N, et al. Pectolarigenin ameliorates acetaminophen-induced acute liver injury via attenuating oxidative stress and inflammatory response in Nrf2 and PPAR $\alpha$  dependent manners[J]. *Phytomedicine*, 2023, 113:154726.
- [10] GONG X B, LI T J, WAN R Z, et al. Cordycepin attenuates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease via down-regulation of lipid metabolism and inflammatory responses[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 91:107173.
- [11] 杨红胜, 李金斗, 廖文静, 等. 槲皮素及其衍生物金丝桃苷的抗肝纤维化机制研究进展[J]. *解剖学研究*, 2023, 45(6):568-572.  
YANG H S, LI J D, LIAO W J, et al. Research progress on anti-hepatic fibrosis mechanism of quercetin and its derivative hyperoside[J]. *Anat Res*, 2023, 45(6):568-572.
- [12] SZÁNTÓ M, GUPTA R, LEE KRAUS W, et al. PARPs in lipid metabolism and related diseases[J]. *Prog Lipid Res*, 2021, 84:101117.
- [13] KUANG J L, WANG J Y, LI Y T, et al. Hyodeoxycholic acid alleviates non-alcoholic fatty liver disease through modulating the gut-liver axis[J]. *Cell Metab*, 2023, 35(10):1752-1766.e8.

(收稿日期:2024-08-14 修回日期:2025-02-24)

(编辑:李 劲)