

青钱柳多糖对高脂血症小鼠的降血脂作用及机制初探

胡文兵, 赵静, 陈婷婷, 吴茹, 王文君

(江西农业大学南昌市农产品加工与质量控制重点实验室, 江西南昌 330045)

摘要: 为初步探究青钱柳多糖(CPP)对高脂血症小鼠降血脂作用和机制, 将高脂血症小鼠随机分为模型对照组、辛伐他汀组、空白对照组以及青钱柳低、中、高剂量组, 每组16组。模型对照组与空白对照组均喂以等量的无菌水, 辛伐他汀组喂以4 mg/kg的辛伐他汀与CMC-Na(0.5%)的混悬液, 青钱柳低、中、高剂量组分别喂以100 mg/kg、200 mg/kg和400 mg/kg的CPP水溶液, 连续喂养4周。实验结束后, 测定血清TC、TG、HDL-C、LDL-C、FFA水平和LPS活力, 取肝脏做病理形态学观察, 用RT-PCR方法测定HSL mRNA的表达量。结果表明, 与模型对照组相比, CPP组小鼠血清TC、TG、LDL-C的水平和LPS的活力($P < 0.01$)均显著降低, HDL-C和FFA的水平($P < 0.01$)则显著增加; CPP组小鼠肝脂变程度较模型组有不同程度的改善; 相比于模型对照组, CPP组的HSL mRNA的表达量均显著上升($P < 0.05$)。综上, CPP可以明显降低高脂血症小鼠血脂水平, 改善其因摄入过多脂质而导致肝脏脂肪变性。

关键词: 青钱柳多糖; 高脂血症; 肝脏病理形态学; 激素敏感脂肪酶基因

文章编号: 1673-9078(2015)11-39-44

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.007

Preliminary Studies on the Hypolipidemic Effect and Mechanism of *Cyclocarya paliurus* Polysaccharides in Hyperlipidemic Mice

HU Wen-bing, ZHAO Jing, CHEN Ting-ting, WU Ru, WANG Wen-jun

(Key Lab for Agro-Products Processing and Quality Control, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: To preliminarily investigate the hypolipidemic mechanism and effect of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides (CPP) in hyperlipidemic mice, the mice were randomly divided into model control, blank control, simvastatin, low dose CPP, medium dose CPP, and high dose CPP groups (16 mice per group). Model control and blank control groups were orally administered with equivoluminal bacteria-free water. The simvastatin group was administered with a suspension of 4 mg/kg simvastatin and carboxymethylcellulose sodium (CMC-Na; 0.5%). The low-dose, medium-dose, and high-dose CPP groups were administered with 100 mg/kg, 200 mg/kg, and 400 mg/kg CPP water solutions, respectively. After four weeks of feeding, the lipopolysaccharide (LPS) activity and the levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), HDL-C, and free fatty acids (FFA) were determined. The liver was removed to assess the pathological morphology and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was employed to detect the expression level of hormone-sensitive lipase (*Hsl*) mRNA. The results indicated that CPP induced a significant reduction in TC, TG and LDL-C levels and LPS activity ($P < 0.01$), a significant increase in HDL-C and FFA levels ($P < 0.01$), and different degrees of improvement in the degree of hepatic steatosis when compared to the model group. Compared with the model group, a remarkable increase of *Hsl* mRNA expression was observed in CPP groups ($P < 0.05$). In summary, CPP can significantly decrease blood lipid levels and improve hepatic steatosis due to excessive uptake of lipids in hyperlipidemic mice.

Key words: *Cyclocarya paliurus* polysaccharide; hyperlipidemia; pathological morphology of the liver; hormone-sensitive lipase gene

随着人们生活水平的提高, 生活方式的改变, 人

收稿日期: 2015-01-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31160319); 江西省高等学校科技落地计划资助项目(KJLD13027); 江西省教育厅科技计划资助项目(GJJ13281); 研究生创新项目(YC2014-S188)

作者简介: 胡文兵(1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 分子营养学

通讯作者: 王文君(1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品化学与分子营养学

们的膳食结构和饮食习惯也随之发生了很大的变化, 由素食型逐渐向高脂型膳食过渡, 摄入的脂类(特别是饱和脂肪)较多, 长期摄入高胆固醇食物会导致体内脂质代谢异常, 进而引发高脂血症。高脂血症主要是指血清TC或TG等高于正常血脂水平的脂类代谢障碍症, 是心脑血管疾病及动脉粥样硬化等疾病的主要诱因^[1]。近年来, 高脂血症的发病率还有逐渐上升的趋势, 由此而兴起了研发降血脂的药物及保健品的

浪潮,寻找高效无毒副作用的天然降血脂药,将是本世纪医药保健行业所要解决的难题之一。植物多糖因其具有降血脂、抗氧化等生物学活性,而成为当今研究的热点^[2,3]。

青钱柳(*Cyclocarya paliurus* (Batal.) *Ijinskaja*)又称为青钱李或金钱柳,系胡桃科青钱柳属落叶乔木。该属现仅存一种,是我国濒临绝种的珍稀树种之一。它主要分布于我国的两广、浙、赣、闽、贵、鄂、豫、皖等区域,常生长于海拔425~2500 m的山区石灰岩等地^[4]。青钱柳树叶味甘甜,民间用它当茶叶泡茶饮用,发现该茶具有生津止渴,清热解暑,降血压和延年益寿的功效,因而又有“甜茶、神茶”之称。《中国中药资源志要》也有记载^[5],青钱柳树叶、树皮具有清热消肿,止痛功能,可用于治疗顽癣。

近年来,青钱柳的多种功效得到了广泛的关注,比如抗氧化、降血糖、降血脂、降血压等功效^[6,7]。其叶子含有多种活性成分,包括胡萝卜素、蛋白质、黄酮类、多糖类、三萜类等化合物。在这其中,青钱柳多糖越来越成为人们关注的焦点。有研究表明,青钱柳多糖具有明显地改善血脂代谢和提高机体抗氧化能力的作用^[8]。但有关青钱柳多糖降血脂机制以及其对肝脏病理形态学的影响鲜有报道。

本实验研究了青钱柳多糖通过对小鼠 HSL mRNA 表达的影响探讨其降血脂机制以及其对高脂血症小鼠肝脏病理形态学的影响,为青钱柳多糖降血脂的机制提供了进一步的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验原料

青钱柳(购于江西修水县)经水提醇沉法提取的多糖^[8];150只健康雌性昆明种小鼠,体重18~22 g,江西南昌大学医学院动物室提供(生产许可证号:SYXK(赣)2010-0002),饲养于干净、整洁、通风良好的动物实验室,自由饮水摄食(饲料由江西南昌大学医学院动物室提供)。小鼠饲养环境温度为25~28℃,相对湿度55~65%,光照时间12 h/d(人工照明:7:00~19:00)。

1.1.2 主要药物和试剂

辛伐他汀片,湖北恒安药业有限公司;胆固醇,天津市大茂化学试剂厂;总胆固醇试剂盒(CHO)、甘油三酯试剂盒(TG)、低密度脂蛋白胆固醇试剂盒(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇试剂盒(HDL-C),中生北控生物科技股份有限公司;游离脂肪酸测试盒

(NFFA)、脂肪酶测试盒(LPS),南京建成科技有限公司;苏木紫,Britain进口分装;曙红(水溶),天津市大茂化学试剂厂;中性树胶,上海华申康复器材有限公司;DEPC(焦炭酸二乙酯),Amresco公司;Trizol试剂盒,RT-PCR试剂盒,北京全式金生物技术有限公司;2×Taq PCR Master Mix,美国BEST ALL公司;PCR引物,上海生物工程有限公司;琼脂糖,Promega公司。实验所用其他化学试剂均为分析纯级别。

1.1.3 主要仪器和设备

LGR16-W 高速冷冻离心机,北京医心机厂;BS224S 电子天平,赛多利斯(北京)公司;SpectraMax M2 酶标仪,美国Molecular Devices公司;ZT-12J型生物组织自动脱水机、YB-6D生物组织石蜡包埋机、YT-6C生物组织摊烤片机,湖北省孝感市亚光医用电子技术研究所;KD-1508A 轮转式切片机,浙江金华科迪仪器设备有限公司;光学显微镜Motic BA200,厦门麦克奥迪实业集团有限公司;倒置生物显微镜,南京江南永新光学有限公司;显微成像系统,Canon数码;Eppendorf小型高速离心机(5415D型),德国Eppendorf公司;超微量分光光度计,Thermo scientific;UV-755B 紫外分光光度计,上海分析仪器厂;6B型稳压稳流电泳仪,北京六一仪器厂;PE9600PCR仪(PE9600),PERKIN ELMER公司;全自动数码成像及分析系统(GeneGenius),SYNGENE公司。

1.2 实验方法

1.2.1 高脂乳剂的配制

高脂乳剂的配制见文献^[8]。

1.2.2 小鼠分组与处理

小鼠经适应性喂养一周后,随机分成空白对照组(20只)和模型组(130只)。模型组每日上午用高脂乳剂(1 mL/kg)对小鼠进行灌胃,空白对照组每日上午灌胃等体积的无菌水。连续灌胃两周后,禁食(不禁水)12 h,乙醚麻醉后,眼眶静脉采血,测定小鼠血清TC、TG、HDL-C、LDL-C、FFA、LPS值。以空白对照组为参考,按照与空白组TC值差异极显著($P<0.01$)选取80只造模成功的小鼠,并将其随机分为5组,分别为模型对照组、辛伐他汀组和青钱柳多糖低、中、高剂量组,每组16只。除空白对照组外,各组小鼠每天上午灌胃高脂乳剂(1 mL/kg),下午三个青钱柳多糖组分别以100 mg/kg、200 mg/kg和400 mg/kg的青钱柳多糖水溶液灌胃,模型组以等体积的无菌水灌胃,辛伐他汀组以4 mg/kg的辛伐他汀与CMC-Na(0.5%)混悬液灌胃。实验期间,各组小鼠自由饮水摄食,每天观察并记录动物的活动、进食状

况。每周称量一次体重,以便合理地调整给药剂量。

1.2.3 生化指标的测定

第4周灌喂结束后,禁食(不禁水)12 h,空腹眼眶静脉采血700 μL ,在4 $^{\circ}\text{C}$,3500 r/min离心10 min,分离血清,采用酶标仪按试剂盒使用说明测定TC、TG、HDL-C、LDL-C、FFA、LPS值。实验结束后,用乙醚麻醉小鼠,迅速解剖小鼠,摘取肝脏于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用,另取一份小鼠肝脏右叶部分组织,生理盐水清理后,浸泡于10%中性甲醛溶液中固定备用(48 h以上)。

1.2.4 肝脏病理形态学观察

固定好的肝脏组织块,经洗涤、脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、贴片、展片和烤片后,依照染色程序进行H&E染色。于光镜下观察各组小鼠肝脏的病变的情况,再使用Canon数码显微系统进行拍照。

1.2.5 RNA的提取、cDNA的合成与RT-PCR

总RNA的提取:使用Trizol试剂提取肝组织的总RNA,并用超微量紫外分光光度计和电泳分析测定其浓度、纯度(A_{260} 与 A_{280} 的比值介于1.8~2.0之间)及完整性,剩余RNA于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

cDNA的合成:在反应体系中加入5~500 ng Total RNA/mRNA、1 μL Anchored Oligo (dT) 18 (0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)、10 μL 2 \times ES Reaction Mix和1 μL EasyScriptTM RT/RI Enzyme Mix,最后加入RNase-free Water补充至20 μL 。将该混合物混匀,42 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min,85 $^{\circ}\text{C}$ 加热5 min灭活EasyScriptTM RT。取出1 μL cDNA使用超微量紫外分光光度计测定其浓度,剩余cDNA可保存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 或立即用于PCR。

RT-PCR:参照GenBank提供的基因序列,利用DNAMAN (version 3.0)设计引物(上海生工合成)。引物序列为:HSL, FP, 5'-ACGGCGGCTGTCTAATG TCT-3', RP, 5'-GGCTGGCACGGAAGAAGATA-3', 登陆号, BC 021642, 扩增长度, 227 bp; β -actin, FP,

5'-CAGGGTGTGATGGTGGGAA-3', RP, 5'-CGGTT GGCCTTAGGGTTCA-3', 登录号, NM 007393, 扩增长度, 212 bp。RT-PCR反应体系为:1 μL cDNA, 0.5 μL FP, 0.5 μL RP, 12.5 μL 2 \times Taq PCR Master Mix, ddwater (补充至25 μL)。RT-PCR反应条件为:HSL, 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s, 61 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s, 31次循环; β -actin, 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s, 59.3 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s, 34次循环。

1.2.6 统计分析

实验数据统计和分析采用DPS统计软件(v3.01专业版),并采用Duncan新复极差法进行多重比较。各项指标均以 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 表示, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与讨论

2.1 青钱柳多糖对高脂血症小鼠体重和生长情况的影响

由表1可得出,在连续给药四周后,与空白对照组相比,模型对照组小鼠体重显著增加($P < 0.01$),可见长期的高脂饮食可影响体重变化。辛伐他汀组和青钱柳多糖低、中、高剂量组小鼠体重较模型对照组显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示青钱柳多糖对高脂血症小鼠的体重增加有明显的抑制作用。空白对照组小鼠精神状况良好,反应灵敏,动作自如,皮毛有光泽,采血收集的血浆流动性好;模型组小鼠在高脂日粮灌喂期间,体态肥胖,精神萎靡,嗜睡少动,皮毛粗糙无光泽,采血收集的血浆粘稠,流动性差。给药期间,青钱柳多糖中、高剂量组小鼠行动逐渐恢复正常,与建模期间相较,体态轻盈,进食正常,皮毛光泽度改善,采血收集血浆流动性良好。

表1 青钱柳多糖对高脂血症小鼠体重的影响

Table 1 Effect of CPP on body-weight of hyperlipidemic mice

组别	剂量 /[mg/(kg d)]	体重/g			
		第1周	第2周	第3周	第4周
模型对照组	/	30.96 \pm 2.75 ^{aA}	30.67 \pm 2.39 ^{abA}	32.13 \pm 2.71 ^{aA}	32.05 \pm 2.90 ^{aA}
辛伐他汀组	4	28.99 \pm 2.92 ^{bBC}	30.10 \pm 3.19 ^{abAB}	31.19 \pm 2.68 ^{abAB}	29.63 \pm 2.78 ^{bcB}
低剂量组	100	30.38 \pm 3.85 ^{aAB}	31.27 \pm 3.55 ^{aA}	31.59 \pm 3.35 ^{aAB}	30.59 \pm 3.45 ^{bAB}
中剂量组	200	28.69 \pm 3.13 ^{bBC}	29.68 \pm 3.38 ^{bcAB}	31.10 \pm 3.28 ^{abAB}	29.19 \pm 3.36 ^{cdB}
高剂量组	400	27.31 \pm 4.26 ^{cC}	28.63 \pm 3.25 ^{cB}	29.95 \pm 4.01 ^{bBC}	28.35 \pm 3.86 ^{dB}
空白对照组	/	30.03 \pm 3.04 ^{abAB}	30.79 \pm 3.14 ^{abA}	28.70 \pm 2.98 ^{cC}	28.57 \pm 3.49 ^{cdB}

注:同一列不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),小写字母表示差异显著($P < 0.05$),表中数据以 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 表示, $n=16$ 。

2.2 青钱柳多糖对高脂血症小鼠血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C、FFA、LPS 的影响

高脂血症是血脂代谢异常所致，其主要表现为血中胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）和低密度脂蛋白（LDL-C）过高或高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）过低。HDL-C 可以从肝外组织将胆固醇运送到肝内进行降解，再排到体外，减少胆固醇沉积，LDL-C 则是将肝脏合成的胆固醇转运到全身组织。血液中游离脂肪酸（FFA）是中性脂肪酸分解成的物质，是人体供能的直接来源；血清脂肪酶是胰腺分泌的消化酶之一，主要催化脂肪水解为甘油和脂肪酸。由表 3 可知，相比于模型对照组，中、高剂量组青钱柳多糖和辛伐他汀均可显著降低肝脏 FFA 值（ $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ）；低、中、高剂量青钱柳多糖和辛伐他汀均可显著增加肝脏 LPS 的活性（ $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ）。可见青钱柳多糖能增加肝脏 LPS 的活性，促进肝脏脂肪代谢和防止由于 LPS 活性降低而使脂类物质堆积，同时降低肝脏游离脂肪酸的含量，减少其对肝脏的损伤，这与焦岩等^[9]研究结果一致。由表 2 可知，与模型对照组相比，低、中、高剂量青钱柳多糖和辛伐他汀均可显著降低血清 TC、TG、LDL-C 的水平和 LPS 的活力（ $P<0.01$ ），增

加 HDL-C 和 FFA 的水平（ $P<0.01$ ），并且青钱柳多糖低、中、高剂量组间下降率呈一定的量效关系，以高剂量组效果最佳。说明青钱柳多糖可在很大程度上改善高脂血症小鼠血脂水平，低、中剂量的青钱柳多糖与辛伐他汀的降脂效果相当，高剂量青钱柳多糖的降脂效果最为明显，这与 TANG 等^[10]的研究相似。青钱柳多糖能显著降低高脂血症小鼠的血脂水平的原因可能是青钱柳多糖通过提高血清 HDL-C 含量，把胆固醇运回肝脏，加快肝脏对脂类的降解，从而降低血脂水平；降低 LPS 的活性，减少机体对甘油三酯的吸收。

表 2 青钱柳多糖对高脂血症小鼠肝脏 FFA 和 LPS 的影响

Table 2 Effect of CPP on FFA levels and LPS activity in the liver of hyperlipidemic mice

组别	剂量/[mg/(kg d)]	FFA/($\mu\text{mol/L}$)	LPS/(U/L)
模型对照组	/	339.36 \pm 32.73 ^{ba}	25.01 \pm 4.18 ^b
辛伐他汀组	4	344.12 \pm 31.78 ^{aa}	28.08 \pm 3.09 ^{db}
低剂量组	100	343.17 \pm 47.41 ^{aba}	35.79 \pm 8.67 ^{cb}
中剂量组	200	324.13 \pm 46.65 ^{cb}	41.04 \pm 6.29 ^{bb}
高剂量组	400	251.77 \pm 33.58 ^{dc}	78.42 \pm 22.92 ^{aa}
空白对照组	/	211.91 \pm 10.08 ^{cd}	27.38 \pm 2.07 ^{deb}

注：同一列不同大写字母表示差异极显著（ $P<0.01$ ），小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ），表中数据以 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 表示， $n=16$ 。

表 3 钱柳多糖对高脂血症小鼠血清 TC、TG、HDL-C、LDL-C、FFA、LPS 的影响

Table 3 Effect of CPP on LPS activity and the levels of TC, TG, HDL-C, LDL-C, and FFA in the serum of hyperlipidemic mice

组别	剂量/[mg/(kg d)]	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	FFA/($\mu\text{mol/L}$)	LPS/(U/L)
模型对照组	/	3.32 \pm 0.13 ^{aa}	3.16 \pm 0.11 ^{aa}	2.56 \pm 0.14 ^{cb}	1.66 \pm 0.54 ^{aa}	1130.70 \pm 150.60 ^{ed}	266.82 \pm 26.23 ^{aa}
辛伐他汀组	4	3.00 \pm 0.13 ^{bb}	1.22 \pm 0.11 ^{cc}	3.04 \pm 0.15 ^{ba}	1.61 \pm 0.41 ^{bab}	1817.50 \pm 166.80 ^{cb}	94.98 \pm 25.91 ^{dc}
低剂量组	100	3.04 \pm 0.13 ^{bb}	1.29 \pm 0.11 ^{cc}	2.99 \pm 0.14 ^{ba}	1.44 \pm 0.22 ^{cb}	1395.60 \pm 150.40 ^{dc}	133.41 \pm 27.31 ^{cc}
中剂量组	200	3.02 \pm 0.13 ^{bb}	1.21 \pm 0.11 ^{cc}	3.12 \pm 0.15 ^{aba}	1.40 \pm 0.47 ^{cb}	2021.50 \pm 155.50 ^{bb}	125.01 \pm 29.49 ^{cc}
高剂量组	400	2.73 \pm 0.14 ^{cc}	1.16 \pm 0.12 ^{cc}	3.27 \pm 0.15 ^{aa}	1.27 \pm 0.33 ^{db}	2079.60 \pm 166.80 ^{bb}	101.63 \pm 27.31 ^{dc}
空白对照组	/	2.39 \pm 0.16 ^{dd}	1.75 \pm 0.14 ^{bb}	2.20 \pm 0.17 ^{dc}	0.75 \pm 0.32 ^{cc}	2459.20 \pm 175.80 ^{aa}	187.02 \pm 26.45 ^{bb}

注：同一列不同大写字母表示差异极显著（ $P<0.01$ ），小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ），表中数据以 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 表示， $n=16$ 。

2.3 青钱柳多糖对高脂血症小鼠肝脏病理形态的影响

肝脏是脂肪代谢的主要场所，长期高脂饮食会导致肝脏摄取脂肪增多，酯化作用增强，当脂肪过载并出现代谢障碍时，未被氧化的脂类会沉积在肝细胞内，导致肝细胞发生脂肪变性，造成肝脏的病变，若任其发展则可演变成肝硬化、肝癌等恶劣后果。本实验研究了青钱柳多糖对高脂血症小鼠肝脏病理形态的影响。图 1 是各组小鼠肝脏组织经石蜡切片，HE 染色，

光镜下观察到的肝细胞组织形态结构的结果。结果显示，模型对照组小鼠脂质在肝细胞内聚集，大部分肝细胞出现脂肪变性，肝小叶界限不清，肝索排列紊乱；肝细胞质模糊，细胞质内出现大量的脂滴空泡，细胞核被挤到细胞边缘，少数细胞核消失。空白对照组小鼠肝脏组织结构完整、清晰，肝小叶结构正常；肝细胞呈多边形，排列规则，胞浆均匀，细胞核形态正常，核圆且位于细胞中央。青钱柳多糖低、中、高剂量组小鼠肝小叶结构清晰，细胞排列较整齐，细胞内脂滴空泡减少，肝脂变程度较模型组有不同程度的改善。各组肝组织通过比较细胞脂滴空泡数量和细胞核形态

结构,表明空白对照组、青钱柳多糖高剂量组最好,辛伐他汀组、青钱柳多糖低、中剂量组次之,高脂模型组最差。可见青钱柳多糖可以很大程度上改善高脂血症小鼠肝脏的受损,这可能为青钱柳多糖抗高脂血症性脂肪肝的新产品研究提供理论帮助。李斌^[11]通过高脂诱导小鼠非酒精性脂肪肝病动物模型,在高脂饮食

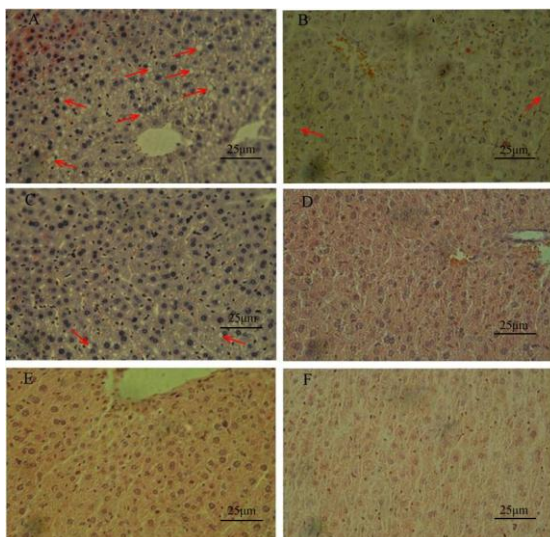


图1 各组小鼠肝脏 HE 染色

Fig.1 H&E stained livers from mice in each group

注: (A) 高脂模型对照组小鼠肝脏HE染色, $\times 400$; (B) 辛伐他汀组小鼠肝脏HE染色, $\times 400$; (C) 青钱柳多糖低剂量组小鼠肝脏HE染色, $\times 400$; (D) 青钱柳多糖中剂量组小鼠肝脏HE染色, $\times 400$; (E) 青钱柳多糖高剂量组小鼠肝脏HE染色, $\times 400$; (F) 空白对照组小鼠肝脏HE染色, $\times 400$ 。

2.4 青钱柳多糖对高血脂症小鼠 HSL 基因表达的影响

激素敏感脂肪酶 (HSL) 是机体脂肪组织分解代谢的限速酶。HSL主要功能是催化水解贮藏在脂肪组织中的甘油三酯,使其水解成游离脂肪酸和甘油,以满足机体的能量需要,其主要在白色脂肪细胞组织中表达,肝脏和肌肉中也有少量的表达。HSL mRNA在肝脏和脂肪中表达的相对光密度值见图2,设空白对照组小鼠肝脏HSL mRNA表达光密度为1,计算其他各组mRNA表达相对光密度值。与空白对照组相比,模型组小鼠肝脏和脂肪HSL mRNA的表达量均显著下降 ($P<0.01$),说明长时间的高脂饮食可以导致小鼠肝脏和脂肪HSL mRNA表达量的下降。相比于模型对照组,青钱柳低、中、高剂量组和辛伐他汀组HSL mRNA的表达量则显著上升 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),另外,辛伐他汀组和低剂量组的表达量相当,并且青钱柳多糖低、中、高剂量组间呈一定的量效关系,以高剂量组效果

中添加木瓜对其进行干预,与正常饮食组对照。经肝组织切片染色,显微镜观察肝组织病理变化,发现与正常组相比,模型组小鼠肝细胞形态明显改变,肝索消失或不清晰;木瓜干预组肝细胞气球样变较少,无明显肝细胞坏死,肝索存在。证明木瓜对高脂饮食所致脂肪肝形成有一定预防效果,与本研究的结果相似。最佳。可见青钱柳多糖可以明显地增加高脂小鼠肝脏和脂肪HSL mRNA 的表达量。Large^[12]等人报道,肥胖病人脂肪细胞中的HSL活性、蛋白浓度以及其mRNA的相对表达量较正常人分别降低了42.6% ($P<0.01$)、47.2% ($P<0.05$)和27.8% ($P<0.05$)。这说明HSL mRNA表达与脂类代谢关系密切。HSL mRNA表达升高,HSL蛋白表达量增加,其活性增强,分解脂肪能力增强,从而加速脂肪分解代谢,降低血脂水平,这可能是青钱柳多糖降低血脂的机理之一。PAIK等^[13]在研究日粮脂肪和进餐频率对大鼠脂肪组织LPS和HSL的影响中发现,机体脂肪含量与HSL的活性呈显著的负相关关系。而Maristelad等^[14]则发现,在无外界条件的刺激下,高蛋白膳食可降低脂肪组织中HSL活性,但其含量则无显著变化。这提示HSL的活性和含量之间的关系有待于进一步的研究。

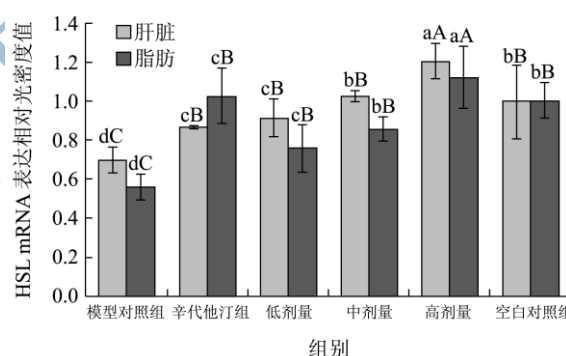


图2 HSL mRNA 在肝脏和脂肪组织中的表达相对光密度值

Fig.2 Relative optical density of Hsl mRNA expression in the liver and adipose tissue

注: 不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$), 小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), $n=16$ 。

3 结论

本研究以青钱柳多糖为研究对象,从多种生化指标、肝脏病理形态学、HSL mRNA 表达等方面来探讨青钱柳多糖降血脂的分子机制以及高脂血症对肝脏的影响。结果表明,青钱柳多糖可以明显改善因摄入过多脂质而损伤的肝脏,并通过调节 HSL mRNA 的表达量来降低血脂水平。

参考文献

- [1] Makni M, Fetoui H, Gargouri N K, et al. Hypolipidemic and hepatoprotective effects of flax and pumpkin seed mixture rich in ω -3 and ω -6 fatty acids in hypercholesterolemic rats [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46: 3714-3720
- [2] Wang Y, Zhu Y, Ruan K, et al. MDG-1, a polysaccharide from *Ophiopogon japonicus*, prevents high fat diet-induced obesity and increases energy expenditure in mice [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 114: 183-189
- [3] Liu J, Wen X Y, Zhang X Q, et al. Extraction, characterization and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from black soybean [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 72: 1182-1190
- [4] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (21卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1979
Editorial committee of china flora of chinese academy of sciences. flora of china (21) [M]. Beijing: Science Press, 1979
- [5] 谢明勇, 谢建华. 青钱柳研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(1): 113-121
XIE Ming-yong, XIE Jian-hua. Research development of *cyclocarya paliurus* (batal.) iljinskaja [J]. Journal of Food and Biotechnology, 2008, 27(1): 113-121
- [6] Wang Q Q, Jiang C H, Fang S Z, et al. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of ethanol and aqueous extracts of *Cyclocarya paliurus* leaves in type 2 diabetic rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 150(3): 1119-1127
- [7] Xie J H, Shen M Y, Xie M Y, et al. Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89 (1): 177-184
- [8] 叶振南, 李楠, 王文君, 等. 青钱柳多糖对高脂血症大鼠及脂质过氧化作用的影响[J]. 现代食品科技, 2014, 4: 1-5
YE Zhen-nan, LI Nan, WANG Wen-jun, et al. Effect of *Cyclocarya paliurus* polysaccharide on hyperlipidemia and anti-lipid peroxidation in hyperlipidemic rats [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 4: 1-5
- [9] 焦岩, 王振宇. 大果沙棘果渣黄酮降血脂与抗氧化作用[J]. 营养学报, 2009, (31)5: 516-518
JIAO Yan, WANG Zhen-yu. Hypolipidemic and anti-oxidant effects of flavone in elaeagnus moorcroftii pumice [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2009, 31(5): 516-518
- [10] Tang Z, Gao H, Wang S, et al. Hypolipidemic and antioxidant properties of a polysaccharide fraction from enteromorpha prolifera [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 58: 186-189
- [11] 李斌, 刘朝奇, 史继静, 等. 木瓜对小鼠非酒精性脂肪肝形成的预防作用[J]. 食品科学, 2010, 31(3): 258-261
LI Bin, LIU Zhao-qi, SHI Ji-jing, et al. Preventive effect of pawpaw on development of non-alcohol fatty liver in mice [J]. Food Science, 2010, 31(3): 258-261
- [12] Large V, Reynisdottir S, Langin D, et al. Decreased expression and function of adipocyte hormone-sensitive lipase in subcutaneous fat cells of obese subjects [J]. Journal of Lipid Research, 1999, 40: 2059-2065
- [13] Hyun S P, Elisabeth S Y. The influence of dietary fat and meal frequency on lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase in rat adipose tissue [J]. The Journal of Nutrition, 1978, 108: 1798-1805
- [14] Maristela P M, William T L F, Luiz C C N, et al. Response to intra- and extracellular lipolytic agents and hormone-sensitive lipase translocation are impaired in adipocytes from rats adapted to a high-protein, carbohydrate-free diet [J]. The Journal of Nutrition, 2004, 134: 2919-2923