

山西老陈醋通过JAK2/STAT3通路减轻高脂饮食诱导的大鼠肝损伤

刘佳佳¹, 申彤¹, 陈嘉^{2*}, 庞全海^{1*}

(1. 山西农业大学动物医学学院, 山西晋中 030801)

(2. 山西农业大学食品科学与工程学院, 农产品贮藏保鲜研究所, 山西太原 030031)

摘要: 旨在探究山西老陈醋通过 JAK2/STAT3 通路减轻高脂饮食诱导大鼠肝损伤的作用机制。使用高脂乳剂灌胃大鼠 5 周, 构建高脂血症模型; 同时低、中、高剂量 (按体质量计 1.35、2.7、5.4 g/kg) 山西老陈醋灌胃大鼠 10 周。血清学检测血清中总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽还原酶 (GRx)、总抗氧化能力 (T-AOC)、谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT)、碱性磷酸酶 (ALK-P) 水平; HE 染色检测肝脏病理学变化; q-PCR 和 WB 检测肝脏中 *JAK2*、*STAT3* mRNA 和蛋白水平表达; 免疫组化技术定位分析。结果显示, 不同剂量山西老陈醋均能够极显著降低脂质含量和肝损伤程度, 提高抗氧化酶活性, 极显著抑制 *JAK2*、*STAT3* mRNA 和蛋白含量 ($P<0.01$); 其中高剂量组 TC、TG 降低 20.50%、48.65%, 高、中剂量组对 AST (32.79%、29.07%)、ALT (21.65%、20.67%)、ALK-P (19.42%、19.71%) 效果最好; 与低剂量组相比, 高中剂量组 *JAK2* (57.07%、34.02%)、*STAT3* (55.19%、41.45%) mRNA 和 *JAK2* (27.89%、24.09%)、*STAT3* (33.06%、26.64%) 蛋白含量 (极) 显著降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。综上, 山西老陈醋减轻高脂饮食诱导大鼠的肝损伤的作用, 可能是通过抑制 JAK2/STAT3 通路的活化来实现。

关键词: 山西老陈醋; JAK2/STAT3 通路; 高脂饮食; 大鼠; 肝损伤

文章编号: 1673-9078(2024)01-10-18

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.1.0096

Shanxi Mature Vinegar Attenuates Liver Injury Induced by a High-fat Diet in Rats through the *JAK2/STAT3* Pathway

LIU Jiajia¹, SHEN Tong¹, CHEN Jia^{2*}, PANG Quanhai^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, China)

(2. College of Food Science and Engineering, Institute of Agricultural Product Storage and Preservation, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, China)

引文格式:

刘佳佳, 申彤, 陈嘉, 等. 山西老陈醋通过 JAK2/STAT3 通路减轻高脂饮食诱导的大鼠肝损伤[J]. 现代食品科技, 2024, 40(1):10-18.

LIU Jiajia, SHEN Tong, CHEN Jia, et al. Shanxi mature vinegar attenuates liver injury induced by a high-fat diet in rats through the *JAK2/STAT3* pathway [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(1):10-18.

收稿日期: 2023-02-01

基金项目: 山西省基础研究计划青年科学基金项目 (20210302124240); 山西省农业科学院应用基础研究计划项目 (YBSJJ2002); 国家自然科学基金项目 (31872532; 32273089); 山西省自然科学基金面上项目 (20210302123422); 山西省重点研发计划项目 (202102140601017); 山西省现代农业产业技术体系 (果树) 建设专项资金 (SXFRS-2022)

作者简介: 刘佳佳 (1996-), 男, 硕士, 研究方向: 动物细胞分子调控与生物工程, E-mail: lj13593375651@163.com

通讯作者: 陈嘉 (1985-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 山西老陈醋关键技术开发及功能特性, E-mail: cj44cj@163.com; 共同通讯作者:

庞全海 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 畜禽营养代谢及中毒病, E-mail: pangquanhai@126.com

Abstract: A hyperlipidemia rat model was used to explore the mechanism by which Shanxi aged vinegar reduces liver injury induced by a high-fat diet. The model involved intragastric administration of high-fat emulsion to rats for 5 weeks, whereas low, medium, and high doses (1.35, 2.7, 5.4 g/kg by body weight) of Shanxi aged vinegar were administered to the rats by gavage for 10 weeks. Serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GRx), total antioxidant capacity (T-AOC), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and alkaline phosphatase (ALK-P) levels were determined by serological testing. Pathological changes in the rat livers were examined using hematoxylin and eosin (H&E) staining. The mRNA and protein levels of *JAK2* and *STAT3* in the livers were detected using q-PCR and WB and immunohistochemical techniques were used for localization analysis. The results showed that Shanxi aged vinegar significantly reduced the serum lipid content and extent of liver injury in rats fed a high-fat diet ($P<0.01$), increased the activity of antioxidant enzymes, and significantly inhibited mRNA and protein levels of *JAK2* and *STAT3* in the rats ($P<0.01$). More specifically, serum TC and TG in the high-dose group was decreased by 20.50% and 48.65%, respectively, compared to the low-dose group. The high-dose and medium-dose groups showed the largest effects on AST (32.79% and 29.07%), ALT (21.65% and 20.67%) and ALK-P (19.42% and 19.71%). Compared with the low-dose group, the high-dose group had significantly lower mRNA levels of *JAK2* (57.07%, 34.02%) and *STAT3* (55.19%, 41.45%), and significantly lower protein levels of *JAK2* (27.89%, 24.09%) and *STAT3* (33.06%, 26.64%) ($P<0.05$, $P<0.01$, respectively). In conclusion, Shanxi aged vinegar attenuated liver injury induced by a high-fat diet in rats, and this may be achieved through inhibition of activation of the JAK2/STAT3 pathway.

Key words: Shanxi aged vinegar; JAK2/STAT3 pathway; high-fat diet; rat; liver injury

高脂血症在临床上是一种常见的体内脂质代谢紊乱性疾病,是多种心脑血管疾病的高危因素之一^[1]。目前,中西药治疗高脂血症均有一定程度副作用,因此膳食辅助防治高脂血症就具有重要意义。山西老陈醋富含的黄酮类化合物、川芎嗪、多酚类化合物^[2]、多糖、氨基酸^[3]、类黑精等活性成分,具有保健功能和药理作用^[4,5]。研究表明,川芎嗪能抑制内源性胆固醇合成,改善血脂水平,缓解高脂血症症状^[6,7];黄酮类物质可显著降低高脂血症大鼠血清和肝脏中甘油三酯水平,抑制并清除体内自由基的产生和脂质过氧化反应,保护肝脏组织^[8,9]。进一步研究证实山西老陈醋具有降低机体总胆固醇和甘油三酯水平、调节血脂、保护肝脏等功能^[10]。JAK/STAT 信号通路是多种细胞因子信号转导的共同通路之一, JAK2 和 STAT3 作为该家族中的重要成员,在信号转导过程中发挥着重要作用^[11]。研究表明, JAK2/STAT3 信号通路参与机体胆固醇、甘油三酯及脂肪酸的脂代谢^[12,13]。Hu 等^[14]报道 JAK/STAT 通路可介导机体的组织修复和脂肪生成等生命活动。Zhang 等^[15]在齐墩果酸对高脂血症疾病的临床试验中证实,齐墩果酸通过干扰 TYK2-STAT1/3 信号传导通路的激活,显著降低了 STAT3 二聚体的形成,进而抑制 STAT3 表达。虽然目前大量研究已证实, JAK2/STAT3 信号通路可调控高脂血症,但山西老陈醋是否通过 JAK2/STAT3 信号通路减轻高脂饮食诱导大鼠的肝损伤尚无文献报道。

基于此,本试验利用高脂乳剂灌胃法建立高脂饮食诱导大鼠模型,不同剂量山西老陈醋对高脂饮食诱导大鼠灌胃治疗,进而探究山西老陈醋通过 JAK2/STAT3 信号通路减轻高脂饮食诱导大鼠肝损伤的作用机制,为后期进一步研究其靶向作用机制提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物

30 只 SPF 级 6 周龄雄性 Wistar 大鼠,许可证号: SCXK(京)2019-0010,斯贝福生物技术有限公司,经山西农业大学试验动物伦理委员会审查,试验动物使用方案符合动物试验伦理要求。

1.1.2 试验主要试剂

紫林老陈醋,山西紫林醋业股份有限公司;玉米胚芽油,山东西王食品有限公司;胆固醇(C8280)、吐温-80(T8360)、丙基硫氧嘧啶(P7161)、胆酸钠(C1291697)、总 RNA 提取试剂盒(R1200)、通用 SP 检测试剂盒(SP0041)、Goat Anti-Rabbit IgG Antibody(SE134)、Goat Anti-Rat IgG Antibody(SE132)均购于 Solarbio;总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(High-Density Lipoprotein Cholesterol, HDL-C)、超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、谷胱甘

肽还原酶 (Glutathione Reductase, GRx)、总抗氧化能力 (Total Antioxidant Capacity, T-AOC)、谷草转氨酶 (Aspartate Aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶 (Alanine Aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶 (Alkaline Phosphatase, ALK-P) 试剂盒均购于南京建成生物工程有限公司; Rabbit Anti-GAPDH Antibody (bsm-33033M)、Mouse Anti-GAPDH Antibody (bs-2188R)、Rabbit Anti-JAK2 Antibody (bs-0908R)、Rabbit Anti-STAT3 Antibody (bs-55208R) 均购于北京博奥森生物有限公司; 荧光定量试剂盒 (MF013) 购于北京聚合美生物科技有限公司等。

1.2 试验方法

1.2.1 不同剂量山西老陈醋的配制

按体质量计 2.7 g/kg 剂量组为原醋组; 将原醋 2 倍稀释 (1/2 原醋) 即为按体质量计 1.35 g/kg 剂量组; 恒温 50 °C 下, 使用恒温磁力搅拌器将原醋 2 倍浓缩 (2 倍原醋) 即为按体质量计 5.4 g/kg 剂量组^[16]。

1.2.2 构建高脂饮食诱导大鼠模型

按照比例: 体积分数 60% 吐温-80 + 体积分数 15% 玉米胚芽油 + 体积分数 6% 胆固醇 + 体积分数 2% 胆酸钠 + 体积分数 0.2% 丙基硫氧嘧啶 + 体积分数水 16.8%, 配制高脂乳剂^[17]。按每天 10 mL (按 kg 体质量计) 高脂乳剂给予大鼠灌胃, 构建高脂饮食诱导大鼠模型, 持续灌胃 5 周。

1.2.3 动物分组与处理

预饲 1 周后, 随机分为 5 组 ($n=6$): 健康对照组 (C)、高脂饮食诱导组 (M)、按体质量计 1.35 g/kg 剂量山西老陈醋灌胃 M 组 (LV)、按体质量计 2.7 g/kg 剂量山西老陈醋灌胃 M 组 (MV) 和按体质量计 5.4 g/kg 剂量山西老陈醋灌胃 M 组 (HV)。室温下, 各试验组大鼠自由饮水、自由采食基础饲料, 试验组灌胃高脂乳剂 5 周, 同时不同剂量 (按每只 2.0 mL/d)

山西老陈醋灌胃 10 周, C 组灌服等量生理盐水, 每周称重 1 次并记录, 试验时间共 10 周。

第 10 周试验结束后, 禁食 16 h, 乙醚麻醉, 腹主动脉采血 2 mL, 4 °C, 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清, -80 °C 保存。大鼠颈椎脱臼处死后, 取相同位置肝脏组织, 质量分数 4% 的多聚甲醛中固定, 肝脏剩余组织液氮冻存。

1.2.4 不同试验组大鼠血清学检测

按照脂质、抗氧化活性、肝功能不同指标试剂盒操作说明, 在酶标仪中检测各组大鼠血清 TC、TG、HDL-C、SOD、GRx、T-AOC、AST、ALT、ALK-P 水平。数据结果采用 Excel 整理后 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行分析。

1.2.5 不同试验组大鼠肝脏病理学检测

取固定的肝脏组织, 常规石蜡包埋切片, 经苏木素-伊红 (HE) 染色后, 置于光学显微镜下观察各组大鼠肝脏病理学形态变化并进行分析。

1.2.6 不同试验组大鼠肝脏中 JAK2/STAT3 通路 mRNA 水平表达检测

根据 NCBI GenBank 已登录的大鼠 *GAPDH*、*JAK2*、*STAT3* 序列, 利用 Primer 3 plus 设计 3 对特异性引物, 委托上海生工生物工程股份有限公司合成 (表 1)。

取冻存的肝脏组织充分研磨后, 加入裂解液提取总 RNA, 测定 RNA 浓度和纯度。相对荧光定量法 (q-PCR) 检测各组大鼠肝脏中 *JAK2*、*STAT3* mRNA 水平表达, 根据荧光定量试剂盒说明书, 构建反应体系 (20 μ L): 2 \times Realtime PCR Super mix 10 μ L、cDNA 模板 2.0 μ L、正反向引物各 0.5 μ L、ddH₂O 7.0 μ L。反应程序: 94 °C 5 min, 94 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 40 个循环, 72 °C 5 min, 每个样本重复 3 次。2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算各组大鼠肝脏中 *JAK2*、*STAT3* mRNA 水平表达。

表 1 引物序列信息

Table 1 Primer sequence information

基因	登录号	引物序列 (5'→3')	产物/bp
<i>GAPDH</i>	NM_017008.4	F: ATGACTCTACCCACGGCAAG R: TGGGTTTCCCGTTGATGACC	75
<i>JAK2</i>	NM_031514.1	F: AAGACTGCCGAGACCAGAAG R: GGAAAGTCCCTGAAAGAGG	103
<i>STAT3</i>	NM_012747.2	F: GCGAAGAATCAAGCAGTTCC R: AGACTCTTCCACAGGCATC	91

1.2.7 不同试验组大鼠肝脏中JAK2/STAT3通路蛋白水平表达检测

取不同试验组大鼠肝组织，研磨后加入裂解液，14 000 r/min 离心 5 min，BCA 试剂盒测定所提蛋白浓度。蛋白上样量为 80 ng，100 °C 沸水使蛋白变性，利用 SDS-PAGE 凝胶电泳分离总蛋白，质量分数 5% 的浓缩胶 80 V 20 min，质量分数 10% 的分离胶 120 V 90 min。湿转法恒流 200 mA 60 min 将蛋白转移至 NC 膜。用质量分数 5% 的脱脂奶粉室温摇床封闭 2 h，TBST 洗膜 5 min/次 ×3 次。抗体稀释液分别稀释 Mouse Anti-GAPDH Antibody (1:5 000)、Rabbit Anti-JAK2 (1:250)、Rabbit Anti-STAT3 Antibody (1:200)，4 °C 孵育 12~14 h。分别加入二抗 Goat Anti-Rat IgG Antibody (1:15 000)、Goat Anti-Rabbit IgG Antibody (1:15 000)，室温孵育 1 h。TBST 充分清洗，ECL Plus 超敏发光液显色，凝胶成像分析仪曝光显影，Image J 软件进行灰度值分析。

1.2.8 不同试验组大鼠肝脏中JAK2/STAT3通路定位分析

取已包埋脱水透明后的各组大鼠肝脏切片，烘干后，经过脱蜡脱水，柠檬酸钠抗原修复液修复，质量分数 3% 的 H₂O₂ 室温处理 10 min，山羊血清封闭液 37 °C 封闭 20 min，分别滴加抗体稀释液稀释的 Rabbit Anti-JAK2 Antibody (1:50)、Rabbit Anti-STAT3 Antibody (1:50)，阴性对照组滴加等量 PBS，4 °C 12 h，室温下复温 30 min，PBS 漂洗 3 次，滴加 HRP 标记二抗 37 °C 孵育 30 min，PBS 漂洗 3 次，滴加链霉亲和素 37 °C 孵育 30 min，PBS 漂洗 4 次，DAB 显色 5 min，蒸馏水漂洗，苏木素轻度复染 30 s，镜检，Image-Pro Plus 6.0 进行平均光密度值分析。

1.3 数据分析

采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件对数据结果作单因素方差分析，试验结果表示为平均值 ± 标准偏差 (SD)。P<0.05 表示差异显著，P<0.01 表示差异极显著。

2 结果与讨论

2.1 不同试验组大鼠体质量和血清学指标检测

2.1.1 不同试验组大鼠每周平均体质量统计结果

不同试验时间各组大鼠平均体质量结果显示 (图 1)，C 组大鼠体质量 11 周时为 595.22 g，与

第一周比增长了 64.26%，M 组大鼠 11 周时体质量 488.78 g，HV、MV、LV 组大鼠 11 周时体质量分别为 415.60、427.40、447.57 g，C 组总体极显著高于其他试验组 (P<0.01)。M 组和不同剂量灌胃组大鼠 1~6 周体质量增长缓慢，6~11 周持续增长；M 组大鼠 1~6 周体质量增长 25%，HV、MV、LV 组大鼠 1~6 周体质量分别增长 38.01%、33.23%、31.47%；M 组大鼠 6~11 周体质量增长 40.88%，HV、MV、LV 组大鼠 6~11 周体质量分别增长 18.82%、26.13%、29.71%，M 组与不同剂量灌醋组大鼠体质量差异无统计学意义，推测是灌胃过程和后期脂肪肝形成会影响大鼠摄食量^[18]。

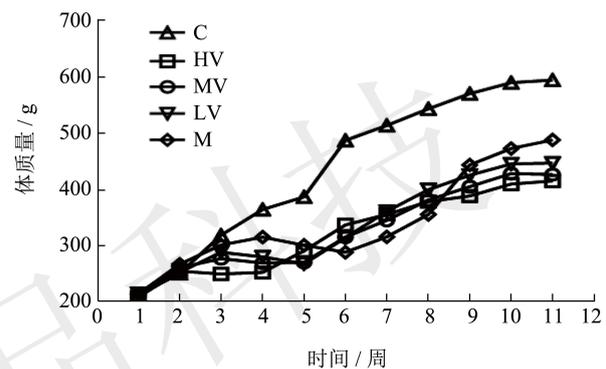


图 1 各组大鼠每周平均体质量统计结果

Fig.1 Statistical results of the mean weekly body weight of rats in each group

2.1.2 不同试验组大鼠血清脂质检测

高脂血症在临床上常表现为血清 HDL-C 降低或 TC 和 TG 升高^[19,20]。本试验脂质检测结果显示 (表 2)，与 C 组相比，M 组 TC、TG 极显著升高 (P<0.01)，分别升高 70.12%、28.74%，HDL-C 极显著降低 53.85% (P<0.01)。说明本研究成功构建高脂饮食诱导大鼠模型。刘兰涛等^[10]试验证明饲喂山西老陈醋醋泥冻干粉的高脂饮食小鼠，TC 和 TG 显著降低及 HDL-C 显著升高。本研究结果显示与 M 组相比，HV、MV、LV 组 TC、TG (极) 显著降低 (P<0.05, P<0.01)，HDL-C (极) 显著升高 (P<0.05, P<0.01)；其中 HV 组 TC、TG 降低 20.50%、48.65%，HDL-C 升高 41.24%，证明不同剂量的山西老陈醋均可以降低血清中脂质水平^[21]。与 LV 组相比，HV 组 TC、TG 极显著降低 26.46%、12.32%，HDL-C 极显著升高 19.90% (P<0.01)；MV 组与 LV 组比，TC、TG (极) 显著降低 23.27% 和 8.25% (P<0.05, P<0.01)，HDL-C 极显著升高 12.76% (P<0.01)；与 MV 组相比，HV 组的

HDL-C 显著升高 8.19% ($P < 0.05$), TC 和 TG 无显著差异。说明高、中剂量的山西老陈醋降低血清脂质效果最好^[22]。

表 2 大鼠血清脂质检测结果

Table 2 Serum lipid test results of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)
C	2.18 ± 0.13 ^A	0.66 ± 0.02 ^A	1.34 ± 0.02 ^A
HV	3.75 ± 0.21 ^{CD}	0.73 ± 0.01 ^{CD}	1.05 ± 0.04 ^{CD}
MV	3.92 ± 0.10 ^{CD}	0.77 ± 0.02 ^{CDE}	0.96 ± 0.02 ^{Dd}
LV	5.10 ± 0.11 ^E	0.84 ± 0.01 ^{Ec}	0.84 ± 0.02 ^E
M	7.31 ± 0.11 ^B	0.92 ± 0.01 ^B	0.62 ± 0.03 ^B

注: A~E 表示差异极显著 ($P < 0.01$), a~e 表示差异显著 ($P < 0.05$), 同一列上标不含相同字母表示有差异, 字母相同表示无显著性差异, 下同。

2.1.3 不同试验组大鼠血清抗氧化活性检测

现代科学研究表明, 山西老陈醋中多种生物活性物质发挥抗氧化功效^[23]。本试验抗氧化活性结果显示 (表 3), 与 C 组相比, M 组 SOD、GRx、T-AOC 极显著降低 ($P < 0.01$), 分别降低 32.16%、48.78%、20.17%。与 M 组相比, HV、MV、LV 组 SOD 极显著升高 19.51%、10.68%、7.41% ($P < 0.01$); T-AOC (极) 显著升高 3.99%、10.56%、6.19% ($P < 0.05$, $P < 0.01$); GRx (极) 显著升高 40%、38.24%、19.23%, 说明不同剂量的山西老陈醋均可以提高大鼠血清抗氧化活性^[24]。与 LV 组相比, HV 组 SOD 和 GRx 极显著升高 13.07% 和 51.92% ($P < 0.01$), T-AOC 无显著差异; MV 组 GRx 和 T-AOC (极) 显著升高 49.70% 和 4.65% ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 MV 组相比, HV 组 SOD 极显著升高 9.89% ($P < 0.01$), 结果表明高剂量山西老陈醋对提高由高脂饮食诱导大鼠的抗氧化活性效果最好。

表 3 大鼠血清抗氧化活性检测结果

Table 3 Test results of serum antioxidant activity in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	SOD/(U/mL)	GRx/(U/L)	T-AOC/(mmol/L)
C	436.87 ± 2.38 ^A	21.97 ± 0.72 ^A	0.83 ± 0.01 ^A
HV	368.24 ± 1.74 ^C	18.76 ± 0.72 ^{CD}	0.69 ± 0.01 ^{BcdE}
MV	331.81 ± 2.60 ^{Dc}	18.22 ± 0.72 ^{CD}	0.74 ± 0.01 ^{Dd}
LV	320.10 ± 5.21 ^{Dc}	13.93 ± 0.71 ^e	0.71 ± 0.01 ^{cDE}
M	296.39 ± 4.82 ^B	11.25 ± 1.07 ^{Bc}	0.66 ± 0.01 ^{Bb}

2.1.4 不同试验组大鼠血清肝功能检测

山西老陈醋中多酚和黄酮类物质可提高肝组织

的抗氧化酶活性, 促进肝脏排毒, 修复肝脏组织损伤, 降低血清中 ALT 和 AST 活性^[25,26]。本试验肝功能结果显示 (表 4), 与 C 组相比, M 组 AST、ALT 极显著升高 37.22% 和 35.37% ($P < 0.01$), ALK-P 极显著降低 38.37% ($P < 0.01$)。与 M 组相比, HV、MV、LV 组 AST 极显著降低 32.79%、29.07%、13.85%, ALT 极显著降低 21.65%、20.67%、14.79%, ALK-P 极显著升高 19.42%、19.71%、10.64% ($P < 0.01$)。结果表明不同剂量的山西老陈醋均可以改善高脂饮食所致的肝功能受损, 与阳飞等^[27]报道结果一致。与 LV 组相比, HV 组和 MV 组 AST 极显著降低 21.99% 和 17.67%, ALK-P 极显著升高 9.83% 和 10.16% ($P < 0.01$); 与 MV 组相比, HV 组 AST 极显著降低 5.25% ($P < 0.01$), 数据结果表明, 高剂量山西老陈醋对高脂饮食诱导大鼠的肝功能改善能力强于其他剂量组。

表 4 大鼠血清肝功能检测结果

Table 4 Serum liver function test results of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	AST/(U/L)	ALT/(U/L)	ALK-P(金氏单位/100 mL)
C	13.61 ± 0.11 ^A	9.64 ± 0.12 ^A	27.37 ± 0.06 ^A
HV	14.57 ± 0.11 ^C	11.68 ± 0.10 ^{CDE}	20.93 ± 0.11 ^{CD}
MV	15.38 ± 0.16 ^D	11.83 ± 0.29 ^{CDEc}	21.01 ± 0.06 ^{CD}
LV	18.67 ± 0.11 ^E	12.71 ± 0.15 ^{Ec}	18.88 ± 0.12 ^E
M	21.68 ± 0.18 ^B	14.91 ± 0.15 ^B	16.87 ± 0.12 ^B

2.2 不同试验组大鼠肝脏病理学检测结果

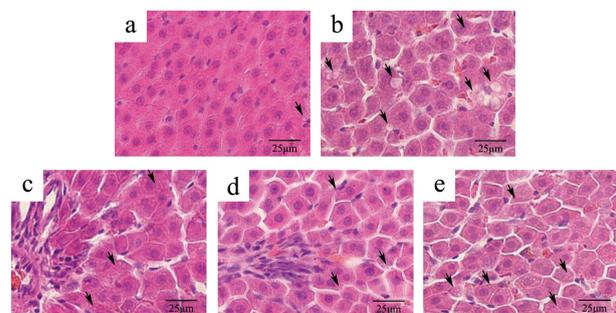


图 2 不同试验组大鼠肝脏 HE 染色 (×40)

Fig.2 The liver of rats in different experimental groups was stained with HE (×40)

注: a~e 依次为: C 组、M 组、HV 组、MV 组、LV 组。

肝脏病理学检测结果显示 (图 2), C 组肝细胞结构完整, 大小均一, 细胞核形态规则且排列整齐; 与 C 组比, M 组肝细胞内有大量明显的脂滴空泡, 细胞核被挤压偏移向一侧; 说明高脂血症模型构建成功。与 M 组相比, 不同剂量灌醋组肝

脏细胞中脂滴空泡明显减少，肝细胞形态趋于正常；与LV组相比，MV组和HV组肝细胞结构明显完整，肝细胞内脂滴明显减少。说明不同剂量山西老陈醋均可改善肝脏组织的病变，且高剂量改善效果最优。

2.3 不同试验组大鼠肝脏中JAK2/STAT3 mRNA水平表达

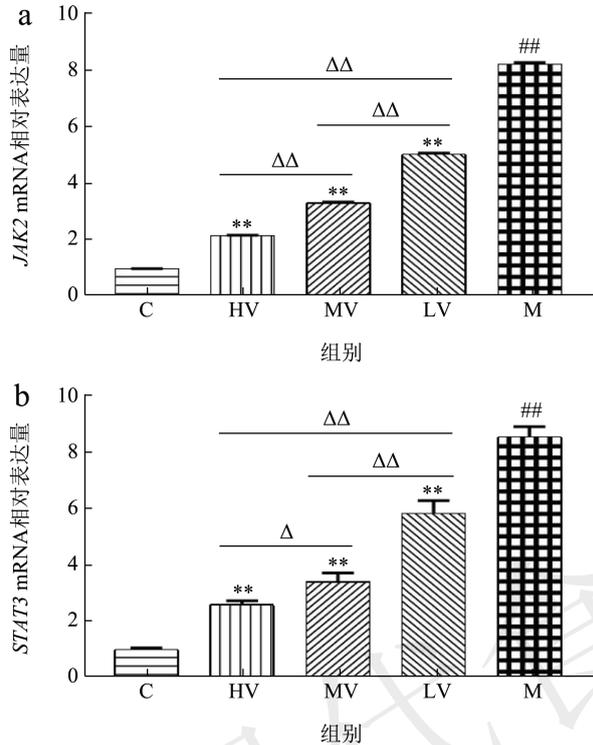


图3 各组大鼠肝脏中JAK2和STAT3 mRNA相对表达量
Fig.3 Relative expression of JAK2 and STAT3 mRNA in liver of rats in each group

注：与C组相比，## $P < 0.01$ ；与M组比，** $P < 0.01$ 、* $P < 0.05$ ；灌醋组间相比， $\Delta\Delta P < 0.01$ 、 $\Delta P < 0.05$ ，下同。

大量试验证明，JAK2/STAT3通路在肝损伤疾病进程中发挥重要的作用，JAK/STAT信号通路的异常表达可导致多种肝损伤^[28,29]。有试验证明，通过抑制JAK2/STAT3信号通路的激活，可有效减缓CCl₄或乙酰氨基酚诱导的大鼠急性肝损伤^[30,31]。赵娜等^[32]研究表明黄酮类物质可通过抑制JAK2/STAT3信号通路减轻肝组织的病理损伤。本试验q-PCR结果显示（图3），与C组相比，M组JAK2/STAT3 mRNA水平表达极显著升高87.87%和88.00%（ $P < 0.01$ ）；与M组相比，HV、MV、LV组JAK2/STAT3 mRNA水平表达极显著降低（ $P < 0.01$ ），JAK2 mRNA水平表达降低至2.17、3.34、5.06，

STAT3 mRNA水平表达降低至2.63、3.44、5.87；与LV组相比，HV组JAK2/STAT3 mRNA水平表达极显著降低57.07%和55.19%（ $P < 0.01$ ），MV组JAK2/STAT3 mRNA水平表达极显著降低34.02%和41.45%；与MV组相比，HV组JAK2/STAT3 mRNA水平表达（极）显著降低34.93%和23.47%（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。数据结果表明了山西老陈醋通过抑制JAK2/STAT3通路中JAK2和STAT3 mRNA水平表达来改善高脂饮食诱导的肝损伤，且高剂量山西老陈醋抑制效果最好。

2.4 不同试验组大鼠肝脏中JAK2/STAT3蛋白水平表达

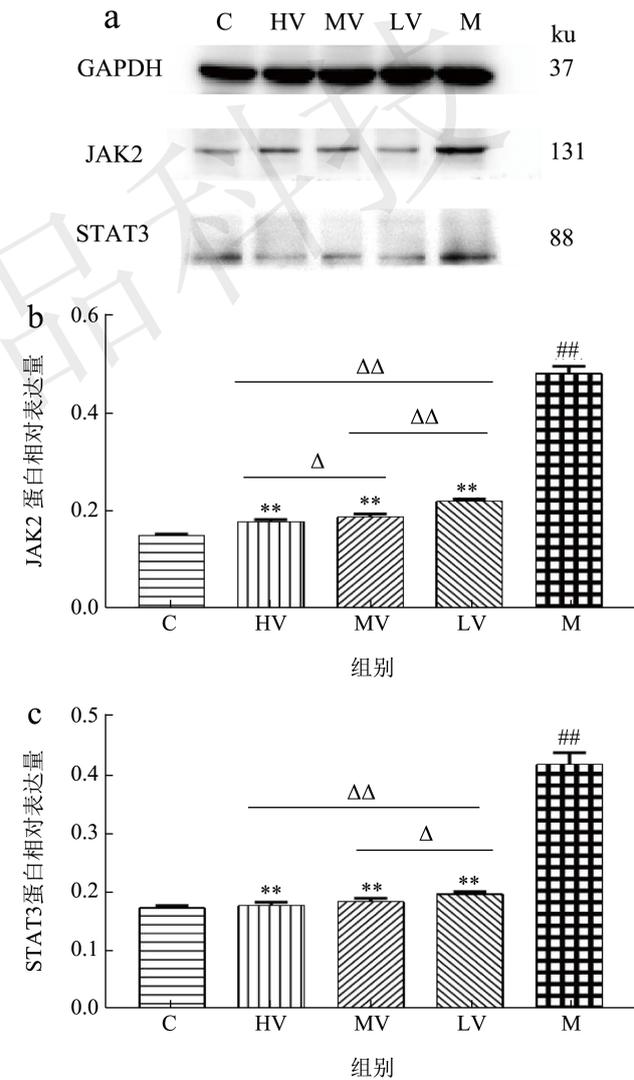


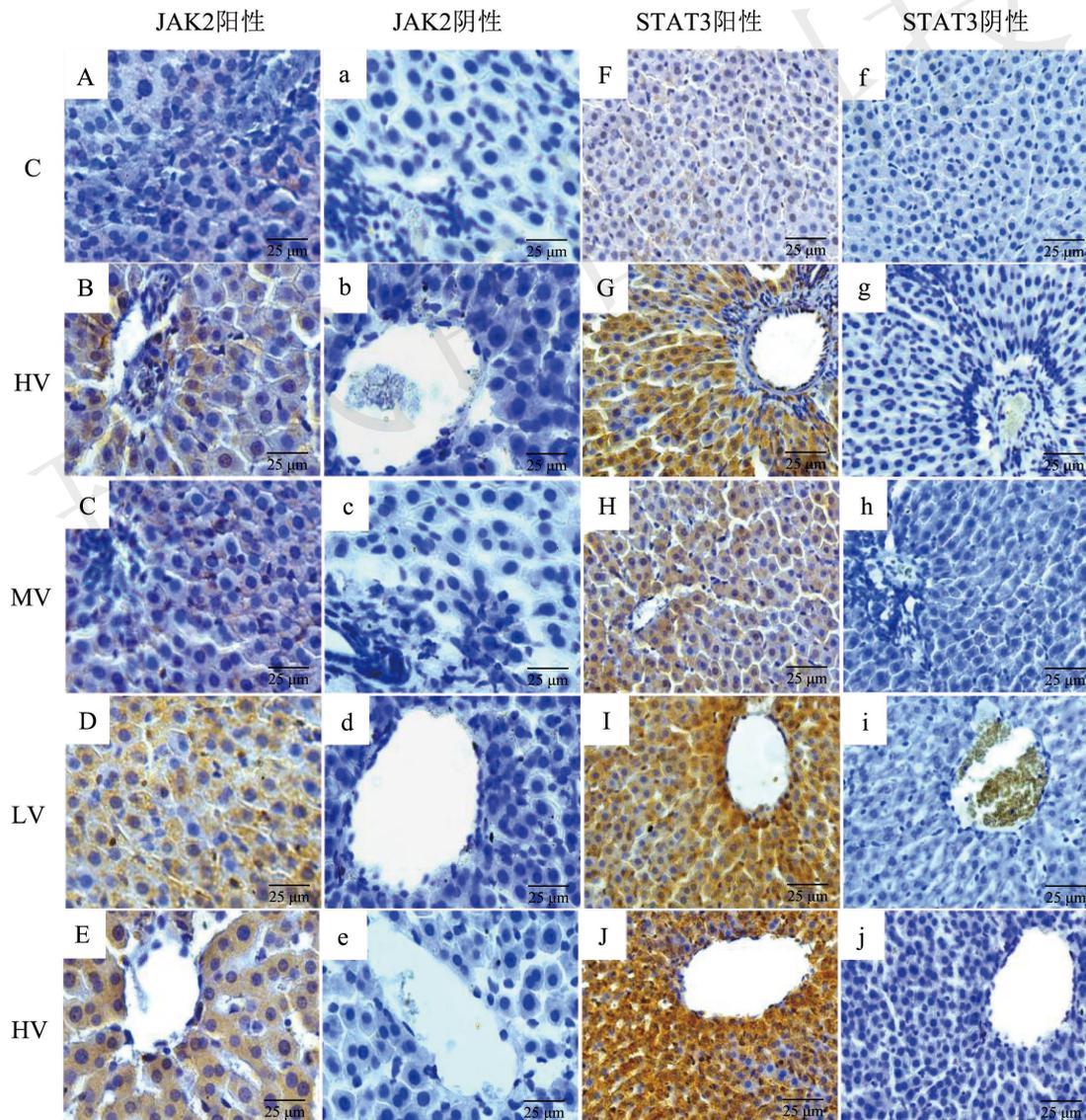
图4 各组大鼠肝脏中JAK2、STAT3蛋白相对表达量
Fig.4 The relative expression of JAK2 and STAT3 protein in the liver of rats in each group

Western Blotting结果显示（图4），与C组相

比, M组 JAK2、STAT3 蛋白水平表达极显著升高 ($P<0.01$), 分别上升68.73%和58.44%; 与M组相比, 不同剂量灌醋组JAK2、STAT3蛋白表达极显著降低 ($P<0.01$); 其中HV、MV、LV组JAK2蛋白表达分别降低63.75%、59.32%、56.68%, STAT3蛋白表达分别降低57.37%、55.97%、52.89%。结果揭示了不同剂量的山西老陈醋可以通过抑制JAK2、STAT3蛋白表达水平, 进而减轻高脂饮食诱导大鼠的肝损伤疾病。与LV组相比, HV组JAK2和STAT3蛋白表达极显著降低16.33%和9.51% ($P<0.01$), MV组(极)显著降低6.10%和6.50% ($P<0.05$, $P<0.01$)。与MV组相比, HV组JAK2蛋白表达显著降低10.90% ($P<0.05$), STAT3蛋白表达无显著差异。结果表明高、中剂量的山西老陈醋抑制JAK2、STAT3蛋白表达效果强于低剂量灌醋组。

2.5 不同试验组大鼠肝脏中JAK2/STAT3定位分析

免疫组化结果显示(图5), 不同试验组大鼠肝脏细胞核与细胞质中均检测到 JAK2、STAT3 蛋白阳性表达。与 C 组相比, M 组 JAK2、STAT3 表达极显著升高 46.89% 和 74.71% ($P<0.01$)。与 M 组相比, 不同剂量灌醋组 JAK2、STAT3 表达(极)显著降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); HV、MV、LV 组 JAK2 表达降低 42.94%、39.93%、20.87%, HV、MV、LV 组 STAT3 表达降低 60.98%、57.24%、41.71%。与 LV 组相比, HV 组 JAK2 和 STAT3 表达降低 27.89% 和 33.06% ($P<0.01$), MV 组降低 24.09% 和 26.64%。与 MV 组相比, HV 组 STAT3 表达极显著降低 5.75% ($P<0.01$), JAK2 表达无显著差异。试验结果进一步证明了山西老陈醋通过抑制 JAK2/STAT3 通路来实现对肝损伤的保护作用。



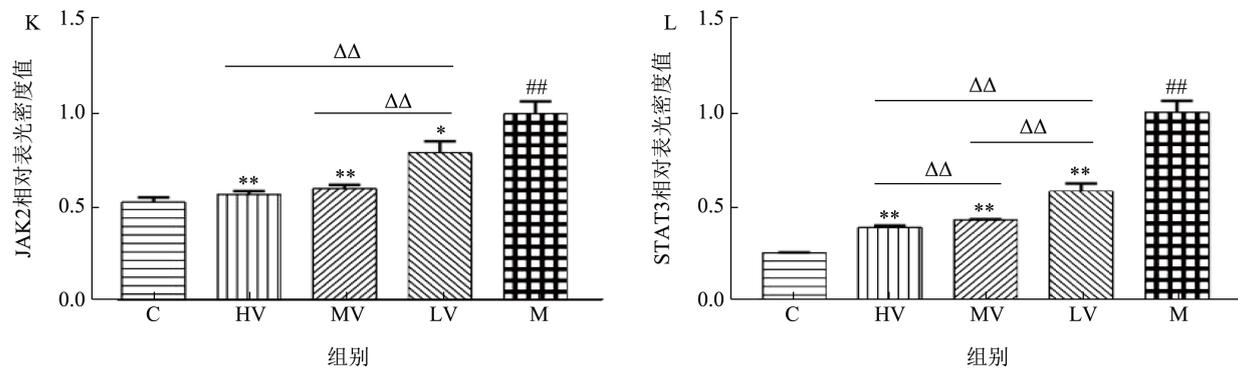


图5 各组大鼠肝脏中 JAK2 (× 40) 和 STAT3 (× 20) 定位及相对光密度值分析

Fig.5 JAK2 (×40) and STAT3 (×20) localization and relative optical density in rat liver

注: A~J 表示阳性表达, a~j 表示阴性对照, K 表示 JAK2 相对光密度值, L 表示 STAT3 相对光密度值。

3 结论

本研究通过血清学检测不同试验组大鼠血清血脂含量、抗氧化和肝损伤水平。发现模型组 TC、TG 含量极显著升高, 证明高脂饮食诱导高脂血症模型构建成功。不同剂量灌醋组均可改善高脂饮食诱导大鼠的血脂、抗氧化和肝损伤水平, 按体质量计 2.7 和 5.4 g/kg 剂量灌醋组 AST、ALT 极显著降低, ALK-P、SOD、GRx、T-AOC 极显著升高, 肝脏病变程度减轻, 肝细胞内脂滴明显减少, 改善效果显著优于按体质量计 1.35 g/kg 剂量灌醋组, 表明浓度为按体质量计 2.7~5.4 g/kg 的山西老陈醋改善效果最佳。不同剂量山西老陈醋均可抑制肝脏中 *JAK2/STAT3* mRNA 和蛋白水平表达, 按体质量计 2.7 和 5.4 g/kg 剂量的山西老陈醋作用效果最为显著, 提示山西老陈醋可能通过抑制 *JAK2/STAT3* 信号通路的激活, 进而减轻高脂饮食引发的肝损伤。本研究可为山西老陈醋在防治高脂血症疾病的发生及靶向调控 *JAK2/STAT3* 通路提供一定的理论依据, 也为山西老陈醋的综合开发与利用提供科学依据。

参考文献

- [1] 张新, 陈文娜. ApoE^{-/-} 高脂模型小鼠肝脏转录组铁死亡潜在分子网络互作的初步探讨 [J]. 重庆医科大学学报, 2022, 47(5): 548-553.
- [2] XIE X, ZHENG Y, LIU X, et al. Antioxidant activity of Chinese Shanxi aged vinegar and its correlation with polyphenols and flavonoids during the brewing process [J]. Journal of Food Science, 2017, 82(10): 2479-2486.
- [3] 沈志远, 孙乐六, 夏蓉, 等. 功能性镇江香醋的研究与产业化探讨 [J]. 中国调味品, 2012, 37(9): 5-7.

- [4] ZHANG B, XIA T, DUAN W, et al. Effects of organic acids, amino acids and phenolic compounds on antioxidant characteristic of Zhenjiang aromatic vinegar [J]. Molecules, 2019, 24(20): 3799.
- [5] ZHOU Y, TAN F, LI C, et al. White peony (fermented *Camellia sinensis*) polyphenols help prevent alcoholic liver injury via antioxidation [J]. Antioxidants (Basel, Switzerland), 2019, 8(11): 524.
- [6] 王涛. 山西老陈醋沉淀物中川芎嗪检测方法分析研究 [J]. 食品工程, 2022, 2: 72-75.
- [7] 杨模俊. 阿托伐他汀与丹参川芎嗪治疗冠心病合并高脂血症的效果分析 [J]. 中国社区医师, 2022, 38(18): 58-60.
- [8] 梁艳文, 田莉, 闫裕峰, 等. 不同工艺酿造山西老陈醋过程中总黄酮及单宁含量变化规律 [J]. 中国酿造, 2021, 40(9): 43-46.
- [9] 王强, 陈东辉, 邓文龙. 金银花提取物对血脂与血糖的影响 [J]. 中药药理与临床, 2007, 3: 40-42.
- [10] 刘兰涛, 杨小兰. 山西老陈醋醋泥冻干粉对高脂饮食小鼠的降血脂与抗氧化作用 [J]. 食品科学, 2015, 36(9): 141-145.
- [11] KIM MS, LEE WS, JEONG J, et al. Induction of metastatic potential by TrkB via activation of IL6/JAK2/STAT3 and PI3K/AKT signaling in breast cancer [J]. Oncotarget, 2015, 6(37): 40158-40171.
- [12] ZHANG R, JIAO J, ZHANG W, et al. Effects of cereal fiber on leptin resistance and sensitivity in C57BL/6J mice fed a high-fat/cholesterol diet [J]. Food Nutrition Research, 2016, 60: 31690.
- [13] CHEN Y, LU W, JIN Z, et al. Carbenoxolone ameliorates hepatic lipid metabolism and inflammation in obese mice induced by high fat diet via regulating the JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. International Immunopharmacology, 2019, 74: 105498.
- [14] HU X, LI J, FU M, et al. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic [J]. Signal Transduct Target

- Ther, 2021, 6(1): 402.
- [15] ZHANG YL, ZHOU Z, HAN WW, et al. Oleanolic acid inhibiting the differentiation of neural stem cells into astrocyte by down-regulating JAK/STAT signaling pathway [J]. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2016, 44(1): 103-117.
- [16] 陈继承. 醋粉中降血脂成分筛选及其对脂质代谢的调控[D]. 杭州:浙江大学,2011.
- [17] 张东,武海军,陈士萍,等.大鼠实验性高脂血症五种造模方法的比较[J].*中国药理学通报*,2007,9:1254-1256.
- [18] 陈育尧,石彩霞,陈业豪.大鼠高血脂及脂肪肝模型的建立[J].*中药药理与临床*,2007,5:216-217.
- [19] 刘学贵,李知明,刘长风,等.基于网络药理学探讨山楂叶抗高脂血症的作用机制及初步验证[J].*食品工业科技*,2022,43(12):36-45.
- [20] GUO WL, PAN YY, LI L, et al. Ethanol extract of *Ganoderma lucidum* ameliorates lipid metabolic disorders and modulates the gut microbiota composition in high-fat diet fed rats [J]. *Food Function*, 2018, 9(6): 3419-3431.
- [21] SONG J, QIU H, DU P, et al. Polyphenols extracted from Shanxi-aged vinegar exert hypolipidemic effects on OA-induced HepG2 cells via the PPAR α -LXR α -ABCA1 pathway [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2022, 46(2): e14029.
- [22] 丁月娣,闫裕峰,陈亨业,等.浓缩山西老陈醋对高脂血症小鼠血脂及血糖的调节作用[J].*食品工业科技*,2020,41(12):286-290.
- [23] 信亚伟,孙惜时,谈甜甜,等.食醋的营养价值和保健功能作用研究进展[J].*中国调味品*,2015,40(2):124-127.
- [24] 陈怡,范茹茹,吴凯,等.不同酿造醋的抗氧化性能的对比研究[J].*激光生物学报*,2020,29(3):281-289.
- [25] 潘妍霓,赵欣,龙兴瑶,等.大叶苦丁茶多酚对四氯化碳致小鼠肝损伤的预防作用[J].*食品工业科技*,2019,40(9):287-294.
- [26] 李欣坪,乔雪,王蒙蒙,等.滇黄芩黄酮的调脂保肝作用及其对肝组织HMGCR、CYP7A1活性影响的研究[J].*中国现代应用药学*,2022,39(2):168-173.
- [27] 阳飞,张华山.食醋及其营养保健功能研究进展[J].*中国调味品*,2017,42(5):171-175.
- [28] 刘鹏,胡阳黔,曹扶胜,等.白术内酯 I 对自身免疫性肝损伤小鼠JAK/STAT信号通路的调节作用研究[J].*现代中西医结合杂志*,2021,30(27):2975-2980,2986.
- [29] 王茜,郝蕾,韩雪,等.解毒护肝方对药物性肝损伤大鼠JAK2/STAT3通路的影响[J].*中药药理与临床*,2019,35(6):144-149.
- [30] 蓝颖,张可锋,连苑宇,等.基于IL-6/JAK2/STAT3信号通路研究岩白菜素对急性肝损伤大鼠的保护作用[J].*天然产物研究与开发*,2021,33(9):1445-1451.
- [31] HE X, KANG K, PAN D, et al. FTY720 attenuates APAP-induced liver injury via the JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2022, 49(5): 67.
- [32] 赵娜,黄丽华.垂盆草总黄酮对肝损伤大鼠肝细胞活性的作用机制[J].*世界中西医结合杂志*,2022,17(9):1745-1750,1770.