·论　著·

脂肪酶对大鼠非酒精性脂肪肝的防治作用

曹苹，何佳，邝辉，刘尧(深圳市药品检验所，广东 深圳 518057)

摘要：目的　研究脂肪酶对高脂饲料诱导的大鼠非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease，NAFLD)的防治作用。**方法**　60 只 Wistar 大鼠，♂，随机分成正常组、模型组和脂肪酶高、中、低剂量组。模型组和脂肪酶组给予高脂饲料喂养以形成 NAFLD 模型，脂肪酶组同时灌胃给予脂肪酶。12 周后处死大鼠，检测血清 TG，TC，HDL-C 含量并计算 TC/HDL-C 值，同时对肝组织进行 HE 染色。**结果**　脂肪酶能有效降低大鼠体重和肝重指数，明显降低模型组大鼠血清 TG，TC 含量及肝内脂肪沉积，改善肝细胞的脂肪性病变，但对 HDL-C 含量无明显影响。**结论**　脂肪酶能有效防治大鼠 NAFLD。

关键词：脂肪酶；非酒精性脂肪肝；防治作用

中图分类号：R965.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1007-7693(2011)13-1301-03

Preventive Effect of Lipase on the Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Rats

CAO Ping, HE Jia, KUANG Hui, LIU Yao(*Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518057, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE　To study the preventive effect of lipase on the non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD) in rats induced by high fat diet. **METHODS**　Sixty male Wistar rats were randomly divided into normal control group, model group and lipase high, medium and low-dose treatment groups. Rats in model group and lipase groups fed on high fat diet to form the NAFLD model, lipase groups fed on lipase at the same time. All rats were sacrificed after 12 weeks and their serum TG, TC, HDL-C levels were determined and the TC/HDL-C ratio was calculated. Hepatic tissues were detected by HE staining. **RESULTS**　Lipase effectively reduced the body weight and the liver weight index of rats, significantly reduced serum TG, TC content and intrahepatic fat deposition, and improved the fatty liver disease, but the HDL-C content had no significant change. **CONCLUSION**　Lipase can effectively prevent and control NAFLD in rats.

KEY WORDS: lipase; non-alcoholic fatty liver; preventive and therapeutic effects

脂肪肝是由遗传-环境-代谢应激相关因素所致的以肝脏内脂肪(一般为甘油三酯)堆积过多为主的临床病理综合症[1]。通常分为酒精性脂肪肝和非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease，NAFLD)。NAFLD 是一种无过量饮酒史，而以肝实质细胞脂肪贮积和脂肪变性为特征的疾病。由于人们生活水平的提高，日常膳食结构中脂肪含量比例的明显增加，NAFLD 的发病率也呈上升趋势。目前发达国家成年人的患病率为 20%~30%，发展中国家的患病率也明显增加[2]。NAFLD 被认为是代谢综合症的重要组成部分，是其在肝脏的表现[3-5]，可导致肝硬化、肝癌、肝功能衰竭。因此，NAFLD 已成为全球医学界关注和研究的热点。但目前对 NAFLD 还缺乏理想的治疗药物。本试验就脂肪酶对 NAFLD 的防治作用作了初步研究。

1　仪器与试药

1.1　仪器

AV-640 型全自动生化测定仪(日本 Olympus 公司)；切片机(LEICA RM2245)。

1.2　药品与试剂

1.2.1　药品　脂肪酶(深圳市绿微康生物工程有限公司，批号：Y0704)，酶活 3 100 U·g^{-1}，2~8 ℃保存，用前以 1%CMC-Na 稀释成 0.26，0.13，0.065 g·mL^{-1}；乙醚(天津市天河化学试剂厂，批号：20080812)。

1.2.2　高脂饲料　自制，配方为 2%胆固醇，10%猪油，0.2%胆酸钠，5%蛋黄粉，82.8%基础饲料。其中，胆固醇(湖南祁东同信生化厂生产，批号：080226)；猪油：市售板油熬制；蛋黄粉：市售鸡蛋自制；胆酸钠(湖南祁东同信生化厂，批号 080109)；基础饲料(南方医院实验动物中心)。

作者简介：曹苹，女，主任药师　　Tel: (0755)26031755　　E-mail: caoping@szda.gov.cn

1.2.3 测定试剂 TC 测定试剂盒和 TG 测定试剂盒均购自中生北控生物科技股份有限公司，批号分别为 080171 和 080201；HDL-C 测定试剂盒(浙江东瓯生物工程有限公司生产，批号 08060579)。

1.3 实验动物

Wistar 大鼠，♂，160~180 g，SPF 级，由南方医科大学实验动物中心提供，实验动物合格证号：2008A052。饲养在中央空调的观察室(粤监证字 2008C083 号，符合屏障级标准)中，温度(24.0±1.0)℃，照明时间 12 h。

2 方法与结果

2.1 试验方法

取大鼠 70 只，乙醚麻醉，眼眶静脉丛取血，离心分离血清，测定 TC，TG 含量，剔除数值异常的大鼠。选取合格大鼠 60 只，按 TC，TG 含量水平，随机分为 5 组，每组 12 只，即正常对照组；模型组(灌胃给予 0.5%CMC-Na)；脂肪酶高中低剂量组[以脂肪酶灌胃给药，剂量分别为 8 060 $U\cdot kg^{-1}$(相当于人拟临床等效用量 2 倍)、4 030 $U\cdot kg^{-1}$(相当于人拟临床等效剂量)、2 015 $U\cdot kg^{-1}$(相当于人拟临床等效剂量的 50%)]。受试药用前分别用 0.5% CMC-Na 研磨、配成所需浓度，给药体积均为 1 $mL\cdot(100\ g)^{-1}$。除正常对照组喂饲普通饲料外，其他各组喂高脂饲料。在试验期间观察动物状态，每周记录体重 1 次，并于造模给药 12 周后，将动物禁食不禁水 16 h，然后用乙醚麻醉，眼眶静脉丛取血约 2 mL，3 000 $r\cdot min^{-1}$ 离心 10 min，取血清，于全自动生化分析仪上测定血清中的 TG，TC，HDL-C 含量，并计算 TC/HDL-C 比值。处死所有动物，摘取肝脏并称重。观察肝脏大体外观后，用 10%甲醛固定肝组织，进行病理学检查。

2.2 观察指标及评定标准

全自动生化分析仪检测血清 TG，TC，HDL-C 含量。

肝脏病理学检查：肝组织进行石蜡包埋、切片、常规 HE 染色后，脂肪病理组织学诊断参考中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组“非酒精性脂肪肝诊断标准”[6]，同时根据肝小叶内脂肪细胞数对脂肪肝程度进行分级[7]：肝细胞内无脂滴沉积为 0 分；肝小叶内<30%的肝细胞有脂肪变为 1 分；肝小叶内 30%~50%的肝细胞有脂肪变为 2 分；肝小叶内 50%~75%的肝细胞有脂肪变为 3 分；肝小叶内 75%以上的肝细胞有脂肪变为 4 分。

2.3 统计方法

采用 SPSS 14.0 软件包进行分析，所有结果均由计算机直接输出。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，各组间比较采用单因素方差分析 LSD 法。$P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2.4 结果

2.4.1 一般观察结果 正常对照组大鼠体重增加较快，模型组和脂肪酶组大鼠体重增长较慢，且脂肪酶高、中剂量组体重明显低于模型组($P<0.05$)；脂肪酶组肝重指数明显低于模型组($P<0.01$)，见表 1。

表 1 脂肪酶对大鼠体重及肝重指数的影响(n=12)

Tab 1 The effects of lipase on body weight and liver weight index of rats(n=12)

分组	脂肪酶剂量/$U\cdot kg^{-1}$	造模前体重/g	解剖前体重/g	肝重指数/%
正常对照组	–	167.32±10.41	418.16±30.90	2.49±0.23
模型组	–	166.54±8.99	353.99±15.00[1)]	3.96±0.20[1)]
脂肪酶高剂量组	8 060	167.53±7.10	344.50±21.48[2)]	3.48±0.31[3)]
脂肪酶中剂量组	4 030	168.91±8.38	338.84±22.63[2)]	3.38±0.20[3)]
脂肪酶低剂量组	2 015	165.22±8.64	350.74±18.60	3.39±0.21[3)]

注：肝重指数(%)=肝重/体重；与正常对照组比较，[1)]$P<0.01$；与模型组比较，[2)]$P<0.05$，[3)]$P<0.01$

Note: Liver weight index (%)=liver weight/body weight; compared with control group, [1)]$P<0.01$, compared with model group, [2)]$P<0.05$, [3)]$P<0.01$

2.4.2 脂肪酶对大鼠 TG，TC，HDL-C 含量及 TC/HDL-C 的影响 模型组的 TG，TC 均明显高于正常对照组，HDL-C 明显低于对照组，说明大鼠脂代谢紊乱造模成功。脂肪酶各组的 TG，TC 值均明显低于模型组，HDL-C 与模型组比较无显著差异，结果见表 2。

2.4.3 肝脏病理学改变

2.4.3.1 大体观察 12 周末，正常对照组大鼠肝脏颜色鲜红，边缘锐利，质软，表面光滑。模型组大鼠肝脏增大，色黄，边缘变钝，质脆，切面有

表 2 脂肪酶对大鼠 TG，TC，HDL-C 含量及 TC/HDL-C 比值的影响(n=12)

Tab 2 The effects of lipase on TG, TC, HDL-C, and TC/HDL-C of rats(n=12)

分组	剂量/U·kg^{-1}	TG/mmol·L^{-1}	TC/mmol·L^{-1}	HDL-C/mmol·L^{-1}	TC/HDL-C
正常对照组	—	0.71±0.15	1.53±0.20	0.93±0.10	1.65±0.08
模型组	—	1.16±0.50$^{2)}$	3.28±0.63$^{2)}$	0.70±0.06$^{1)}$	4.27±0.87$^{2)}$
脂肪酶高剂量组	8 060	0.88±0.24$^{3)}$	2.57±0.52$^{4)}$	0.62±0.07	4.15±0.80
脂肪酶中剂量组	4 030	0.77±0.24$^{3)}$	2.51±0.54$^{4)}$	0.64±0.07	3.98±0.82
脂肪酶低剂量组	2 015	0.77±0.36$^{3)}$	2.58±0.44$^{4)}$	0.66±0.12	3.95±0.50

注：与正常对照组比较 $^{1)}P<0.05$，$^{2)}P<0.01$；与模型组比较 $^{3)}P<0.05$，$^{4)}P<0.01$

Note: Compared with control group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$; compared with model group, $^{3)}P<0.05$, $^{4)}P<0.01$

油腻感。脂肪酶组大鼠肝脏体积较正常组明显增大，但比模型组明显减小，色黄，边缘变钝，质脆，切面有油腻感。

2.4.3.2 光镜观察 正常对照组大鼠肝组织切片 HE 染色显示肝组织无明显脂肪沉积。模型组大鼠肝组织切片 HE 染色显示大部分大鼠肝组织 50%~75%细胞呈明显脂肪变性。脂肪酶组大鼠肝组织切片 HE 染色显示肝组织细胞呈明显脂肪变性的程度与模型组比较明显减少。脂肪变性程度计分见表 3。

表 3 脂肪酶对大鼠肝组织 HE 染色肝细胞脂肪变性的影响(n=12)

Tab 3 The effects of lipase on HE staining of fatty degeneration of rat liver cells(n=12)

分组	剂量/U·kg^{-1}	脂肪变性程度计分
正常对照组	—	0.00±0.00
模型组	—	3.17±0.94$^{1)}$
脂肪酶高剂量组	8 060	1.72±0.49$^{3)}$
脂肪酶中剂量组	4 030	1.88±0.51$^{3)}$
脂肪酶低剂量组	2 015	2.42±0.67$^{2)}$

注：与正常对照组比较，$^{1)}P<0.01$；与模型组比较，$^{2)}P<0.05$，$^{3)}P<0.01$

Note: Compared with control group, $^{1)}P<0.01$; compared with model group, $^{2)}P<0.05$, $^{3)}P<0.01$

3 讨论

脂肪酶是通过微生物发酵生产的，是水解脂肪的酶，可分解天然油脂，使之产生脂肪酸和甘油。据报道，脂肪酶有类似于脂蛋白脂肪酶的特性，有清除细胞及血管中过多的胆固醇的作用，可有效预防大鼠高血脂症。其原因与脂肪酶分解血清中的甘油三脂有关[8]。

在本试验条件下，脂肪酶能明显降低肝重指数，虽对 HDL-C 无明显影响，但能明显降低动物血清 TC，TG 含量，还能显著改善肝脏脂肪沉积。说明脂肪酶不仅对血脂代谢紊乱有明显改善，还具有使肝脏的脂肪沉积明显减少、降低肝脏脂肪变性的作用。有进一步开发成降血脂类、脂肪肝类保健食品的前景[9]。

参考文献

[1] 范建高，曾民德. 脂肪性肝病 [M]. 北京：人民卫生出版社，2005：201.

[2] PREISS D, SATTAR N. Non-alcoholic fatty liver disease: an overview of prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment considerations [J]. Clin Sci(Lond), 2008,115(5): 141-150.

[3] BOPPIDI H, DARAM S R. Nonalcoholic fatty liver disease: hepatic manifestation of obesity and the metabolic syndrome [J]. Postgrad Med, 2008, 120(2): E01-E07.

[4] KHASHAB M A, LIANGPUNSAKUL S, CHALASAHI N. Nonalcoholic fatty liver disease as a component of the metabolic syndrome [J]. Curr Gastroenterol Rep, 2008, 10(1): 73-80.

[5] HJELKREM M C, TORRES D M, HARRISON S A. Nonalcoholic fatty liver disease [J]. Minerva Med, 2008, 99(6): 583-593.

[6] 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝何酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪肝诊断标准 [J]. 中华肝脏病杂志，2003，11(2)：71.

[7] 范建高，钟岚，曾民德，等. 金牡蛎对大鼠高脂血症脂肪肝的防治作用 [J]. 中国海洋药物，1999，(2)：9.

[8] 王毅，徐乐焱，邱炳源，等. 扩展青霉脂肪酶预防高血脂症的实验研究 [J]. 实用预防医学，2002，9(2)：101-103.

[9] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范 [S]. 2003：35-37.

收稿日期：2010-04-08