

板蓝根活性组分预防肥胖作用及机制研究

孙婷婷^a, 袁野^a, 于红艳^b, 刘墨祥^{b△}, 李吉萍^{a*} (扬州大学, a.药理教研室; b.药物研究所, 江苏 扬州 225001)

摘要: 目的 探讨板蓝根活性组分(ACIR)的预防肥胖作用及其可能的作用机制。方法 高脂饮食诱导小鼠肥胖的同时给予不同剂量 ACIR, 观察小鼠体质量、进食量、脂肪重量、脂肪细胞形态、肝脏重量及血脂变化, 并进行小鼠负重游泳实验; 体外培养诱导分化 3T3-L1 前脂肪细胞, 观察 ACIR 对脂肪细胞增殖、分化和脂滴形成的影响。结果 ACIR 能显著降低小鼠体质量、脂肪系数及肝脏重量, 使脂肪细胞变小; 改善小鼠进食量, 明显延长小鼠负重游泳时间, 使血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)含量降低, 但高密度脂蛋白(HDL)无明显变化; 抑制前脂肪细胞增殖和分化, 减少脂滴形成。结论 ACIR 具有预防肥胖和降血脂作用, 其可能的机制是抑制前脂肪细胞增殖和分化。

关键词: 肥胖; 板蓝根活性组分; 3T3-L1 前脂肪细胞; 预防肥胖

中图分类号: R9285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)01-0010-06

Effect and Mechanism of Active Component of Isatidis Radix in Obesity Prevention

SUN Tingting^a, YUAN Ye^a, YU Hongyan^b, LIU Moxiang^b, LI Jiping^{a*} (Yangzhou University, a.Department of Pharmacology; b. Institute of Drug Research, Yangzhou 225001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the preventing obesity effect of active component of Isatidis Radix (ACIR) and its mechanism. **METHODS** Body weight, food intake, fat weight, fat cell morphology, liver weight and lipids of obese mice induced by a high-fat diet were chosen as the indexes to observe the preventing obesity effect of different dosages of ACIR. The swimming time of loaded mice under the action of drugs was also observed. 3T3-L1 preadipocytes were cultured to investigate the effect of ACIR on proliferation, differentiation and lipid droplet formation of 3T3-L1 preadipocytes. **RESULTS** ACIR could significantly decrease the body weight, fat index and the weight of the liver, at the same time reduce lipocyte size, improve food intake in mice, extend the swimming time of mice and serum total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low density lipoprotein decreased (LDL), but high density lipoprotein (HDL) did not change; it could also inhibit the proliferation, differentiation and lipid droplet formation of 3T3-L1 preadipocytes. **CONCLUSION** ACIR has protective effect on preventing obesity, and can reduce blood lipids, which might be related to inhibiting the proliferation and differentiation of preadipocytes.

KEY WORDS: obesity; active component of Isatidis Radix; 3T3-L1 preadipocytes; obesity prevention

肥胖症是一种慢性且易复发的代谢性疾病, 主要表现为体内脂肪积聚过多和分布异常、体重增加。肥胖不但影响体态和活动, 而且与高脂血症、高血压、动脉粥样硬化等疾病的发生发展密切相关。随着全球范围内肥胖患者人数日益上升, 肥胖症已经成为世界性四大医学社会问题之一^[1]。因此寻找疗效确切、不良反应小的防治肥胖药物受到医药工作者的广泛关注。目前国内外已有文献报道从植物原料中分离得到的各种多糖具有降脂减肥作用^[2-4]。板蓝根活性组分(ACIR)是从板蓝根中提取分离获得的活性多糖。本课题组前期研究已证实其具有减肥、调节血脂及抗氧化作用^[5]。本实验进一步研究 ACIR 对高脂饮食肥胖小鼠的预防肥胖作用, 并探讨其机制, 以期防治肥胖及其相关代谢性疾病寻找安全有效的办法。

1 仪器与材料

1.1 动物与细胞

ICR 小鼠 120 只, ♀ ♂ 各半, 体质量 18~22 g, 由扬州大学比较医学实验中心提供, 实验动物生产许可证号: SCXK(苏)2002-0009, 使用许可证号: SYXK(苏)2002-0045; 3T3-L1 前脂肪细胞, 购自上海中科院细胞研究所。

1.2 药物与试剂

板蓝根活性组分, 由扬州大学药物研究所中药及天然药物研究室提供, 多糖含量>80%, 原药材产地: 江苏省连云港市灌南; 奥利司他(批号: SH0183, 由瑞士巴塞尔豪夫迈罗氏公司生产); 高脂饲料(由奶粉 5%、胆固醇 1%、脱氧胆酸 2%、蛋黄粉 10%、猪油 10%和基础饲料 72%混合加工而成); 胎牛血清(批号: 090108, 山东银香伟业生

基金项目: 江苏省苏北星火带科技攻关项目(BE2004339)([△]基金项目负责人)

作者简介: 孙婷婷, 女, 硕士生 Tel: 15806227721 E-mail: stt1002@163.com *通信作者: 李吉萍, 女, 硕士, 副教授, 硕士 Tel: 13815833998 E-mail: jipingli2005@126.com

物工程有限公司); 高糖 DMEM 培养基(批号: 748854, GIBCO 公司); 1-甲基-3-异丁基黄嘌呤(IBMx)、胰岛素、地塞米松和油红 O 染料均购自美国 Sigma 公司。

1.3 主要仪器

倒置显微镜(OLYMPUS 公司); 净化工作台(苏州净化设备有限公司); 台式低温离心机(EPPENDORF 公司); 自动酶标分析仪(基因有限公司); CO₂ 培养箱(上海力申科学仪器有限公司); 恒温水槽(成都仪器厂); 立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂)。

2 方法

2.1 动物分组及给药方法

将 ICR 小鼠按体质量随机分为 6 组, 每组 10 只, ♀♂ 各半。分别为正常组、模型组、奥利司他组(奥利司他 90 mg·kg⁻¹)和 ACIR 25 mg·kg⁻¹、50 mg·kg⁻¹、100 mg·kg⁻¹ 3 个剂量组。实验期间除正常组喂食普通饲料外, 其余 5 组均食用高脂饲料。以 0.2 mL·(10 g)⁻¹ 体质量的容量给小鼠不同剂量的受试物, 连续灌胃 30 d。模型组及正常组每天给予相应体积的蒸馏水。

2.2 实验指标

实验期间每 5 d 称一次体质量, 并根据体质量调整给药量; 每天记录 24 h 进食量, 按 10 g 体质量计算平均食物利用率。实验结束时, 各组小鼠禁食 12 h, 经眼球取血处死, 取肾周、附睾周围和肠系膜脂肪垫及肝脏, 滤纸吸干后称重。计算脂肪系数, 脂肪重量/体质量×100%记作脂肪系数。取同一处脂肪一小块, 用 2.5%甲醛乙醇液固定, 石蜡切片, HE 染色, 在倒置显微镜下照相观察全视野中脂肪细胞形态。分离血清, 采用酶联试剂比色法测定血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)及高密度脂蛋白(HDL)的含量。

2.3 小鼠耐疲劳实验

实验动物分组及给药方法同上。实验结束后, 在(25±1.0)℃水中做负重游泳试验。在小鼠尾巴近端约 1/3 处夹一重为 1.25 g(体质量的 5%)的铁夹子, 在直径 32 cm, 水深 24 cm 的玻璃缸中游泳。观察和记录各组小鼠从放入水中游泳开始至小鼠溺水死亡时间, 以小鼠沉到水中未再有生命活动为实验结束。

2.4 3T3-L1 前脂肪细胞的培养

3T3-L1 前脂肪细胞用含 10%新生牛血清的高糖 DMEM 培养液, 在 37℃、5% CO₂ 条件下培养。细胞达到 80%融合后, 用胰酶消化传代培养。

2.5 ACIR 对前脂肪细胞增殖影响

3T3-L1 前脂肪细胞接种于 96 孔板, 调整每孔细胞数目为 5×10³ 个。常规培养 24 h, 换用 DMEM 培养液配制的 ACIR 溶液 200 μL, ACIR 的浓度分别为 5, 10, 25, 50, 100 μg·mL⁻¹, 同时设空白对照组。每个实验组设 6 个平行孔, 分别培养 24, 48, 72 h 后, 加入 20 μL 新鲜配制的 5 mg·mL⁻¹ 的 MTT 培养液培养 4 h。将培养液吸干后, 每孔加入 200 μL DMSO, 微型振荡器上振荡 10 min 溶解紫色结晶。酶标仪 490 nm 波长处测定吸收度(A 值), 观察 ACIR 对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖的影响。

2.6 3T3-L1 前脂肪细胞的诱导分化

将 3T3-L1 前脂肪细胞接种于 24 孔培养板, 使每孔细胞数目为 5×10⁴ 个, 待细胞接触抑制 2 d 后, 设 1 组空白对照组, 正常加入诱导剂 I (含 0.5 mmol·L⁻¹ 1-甲基-3-异丁基黄嘌呤、1 μmol·L⁻¹ 地塞米松和 10 μg·mL⁻¹ 胰岛素的 10%胎牛血清高糖 DMEM 培养液); 各实验组加入由诱导剂 I 配制的浓度分别为 5, 10, 25, 50, 100 μg·mL⁻¹ 的 ACIR, 培养 48 h; 换以用诱导剂 II (含 10 μg·mL⁻¹ 胰岛素的 10%胎牛血清高糖 DMEM 培养液)配制的各组溶液, 再培养 48 h, 随后以含 10%胎牛血清的高糖 DMEM 培养基继续培养, 每 2 d 换培养液 1 次。

2.7 油红 O 染色提取

不同组的 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化培养至第 8 d, 弃去培养液后, 用 PBS 洗 3 次, 10%甲醛固定细胞 30 min, PBS 洗净后将细胞晾干 30 min, 加入油红 O 染液于细胞表面, 静置 60 min 后, 弃去油红 O 溶液, 用 60%异丙醇洗细胞 2 次去除多余染料, 再以双蒸水洗 3~4 次后, 在倒置显微镜下照相观察。已经完成油红 O 染色的细胞, 加异丙醇溶解油红 O, 振荡摇匀 5 min, 用酶标仪在 570 nm 的波长处测定, 记录各组 A 值。

2.8 统计学处理

本实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 16.0 统计软件进行单因素方差分析, 比较组间差异性。

3 结果

3.1 ACIR 对小鼠体质量的影响

实验初期各组小鼠间体质量差异无统计学意义($P>0.05$)。实验第 20 天开始, 模型组小鼠体质量

明显高于正常对照组($P<0.05$), 与模型组比较, 奥利司他组小鼠体质量显著性降低($P<0.05$)。实验期间, ACIR 25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组对小鼠体质量增长没有显著抑制作用, ACIR 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组第 20 天时

小鼠体质量与模型组比较差异具有统计学意义($P<0.05$), ACIR 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组在第 20, 25, 30 天对小鼠体质量有显著性的降低作用($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 板蓝根活性组分(ACIR)对高脂饮食肥胖小鼠体重的影响($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effect of ACIR on the body weight of obese mice induced by a high-fat diet($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组 别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	给药前 体质量/g	给药后体质量/g					
			5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d
正常组	—	20.42 $\pm$ 1.68	23.67 $\pm$ 2.64	26.25 $\pm$ 3.62	28.00 $\pm$ 4.05	29.00 $\pm$ 4.26	29.75 $\pm$ 4.14	30.33 $\pm$ 4.36
模型组	—	20.58 $\pm$ 1.51	24.50 $\pm$ 2.02	27.92 $\pm$ 3.65	30.42 $\pm$ 4.32	32.92 $\pm$ 4.62 ¹⁾	33.43 $\pm$ 4.19 ¹⁾	34.37 $\pm$ 4.02 ¹⁾
ACIR	25	20.42 $\pm$ 1.83	23.83 $\pm$ 3.16	25.58 $\pm$ 4.12	27.75 $\pm$ 4.73	29.83 $\pm$ 5.08	30.75 $\pm$ 4.22	31.92 $\pm$ 4.56
ACIR	50	20.50 $\pm$ 1.51	23.67 $\pm$ 2.10	25.50 $\pm$ 2.54	27.33 $\pm$ 3.23	29.31 $\pm$ 3.58 ²⁾	30.38 $\pm$ 3.63	31.37 $\pm$ 3.93
ACIR	100	20.42 $\pm$ 1.51	23.50 $\pm$ 1.45	25.33 $\pm$ 2.39	27.17 $\pm$ 3.35	28.92 $\pm$ 4.23 ²⁾	29.69 $\pm$ 3.75 ²⁾	30.52 $\pm$ 4.19 ²⁾
奥利司他组	90	20.58 $\pm$ 1.88	23.50 $\pm$ 2.07	25.83 $\pm$ 3.33	27.67 $\pm$ 3.55	28.44 $\pm$ 3.86 ²⁾	29.43 $\pm$ 3.92 ²⁾	30.15 $\pm$ 4.54 ²⁾

注: 与正常组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$

3.2 ACIR 对小鼠进食量的影响

实验期间小鼠模型组与正常组比较, 进食量减少($P<0.05$)。灌服药物 30 d 后, ACIR (25, 50,

100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和奥利司他组的进食量与高脂模型组比较, 呈显著性提高($P<0.001$ 或 $P<0.05$), 明显改善小鼠进食量, 提高食物利用率。结果见表 2。

表 2 ACIR 对小鼠进食量的影响($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Effect of ACIR on the food intake of the mice($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组 别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	给药前进食量/ $\text{g}\cdot(10\text{ g})^{-1}$	给药后进食量/ $\text{g}\cdot(10\text{ g})^{-1}$		
			1–10 d	11–20 d	20–30 d
正常组	—	2.17 $\pm$ 0.23	1.79 $\pm$ 0.21	1.59 $\pm$ 0.15	1.41 $\pm$ 0.18
模型组	—	2.13 $\pm$ 0.26	1.47 $\pm$ 0.31 ¹⁾	1.41 $\pm$ 0.17 ¹⁾	1.14 $\pm$ 0.11 ²⁾
ACIR	25	2.38 $\pm$ 0.25	1.44 $\pm$ 0.38	1.45 $\pm$ 0.19	1.43 $\pm$ 0.12 ⁴⁾
ACIR	50	2.02 $\pm$ 0.25	1.39 $\pm$ 0.29	1.52 $\pm$ 0.22	1.28 $\pm$ 0.17 ³⁾
ACIR	100	2.36 $\pm$ 0.28	1.43 $\pm$ 0.39	1.47 $\pm$ 0.14	1.26 $\pm$ 0.18 ³⁾
奥利司他组	90	2.30 $\pm$ 0.25	1.59 $\pm$ 0.31	1.51 $\pm$ 0.17	1.27 $\pm$ 0.09 ³⁾

注: 与正常组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.001$; 与模型组比较, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.001$

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.001$; compared with the model group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.001$

3.3 ACIR 对小鼠脂肪重量、脂肪系数、肝脏重量的影响

模型组小鼠脂肪重量、脂肪系数及肝脏重量显著高于正常对照组($P<0.001$, $P<0.01$ 或 $P<0.05$)。给药 30 d 后, ACIR 各剂量组和奥利司他组的小鼠脂肪重量、脂肪系数及肝脏重量与模型组比较差异具有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结果见表 3。

3.4 ACIR 对血清脂质水平的影响

模型组小鼠血清中 TC、TG、LDL 含量与正常组比较差异具有统计学意义($P<0.001$)。经药物治疗后, ACIR(50, 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)及奥利司他组显著降低 TC 和 LDL 含量($P<0.05$), ACIR 的 3 个剂量组及奥利司他组的血清 TG 水平与高脂模型组比较差异均具有统计学意义($P<0.001$), 但各组 HDL 水平均没有明显变化($P>0.05$)。结果见表 4。

表 3 ACIR 对小鼠脂肪重量、脂肪系数及肝脏重量的影响($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Effect of ACIR on fat weight, fat index and liver weight of the mice($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组 别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	脂肪/g	脂肪系数/%	肝脏重量/g
正常组	—	0.52 $\pm$ 0.18	1.73 $\pm$ 0.54	1.18 $\pm$ 0.22
模型组	—	0.79 $\pm$ 0.26 ²⁾	2.39 $\pm$ 0.75 ¹⁾	2.81 $\pm$ 0.64 ³⁾
ACIR	25	0.59 $\pm$ 0.15 ⁴⁾	1.85 $\pm$ 0.38 ⁴⁾	2.34 $\pm$ 0.44 ⁴⁾
ACIR	50	0.54 $\pm$ 0.18 ⁵⁾	1.69 $\pm$ 0.43 ⁵⁾	2.30 $\pm$ 0.41 ⁴⁾
ACIR	100	0.50 $\pm$ 0.15 ⁵⁾	1.65 $\pm$ 0.45 ⁵⁾	2.21 $\pm$ 0.47 ⁴⁾
奥利司他组	90	0.52 $\pm$ 0.15 ⁵⁾	1.65 $\pm$ 0.43 ⁵⁾	2.26 $\pm$ 0.52 ⁴⁾

注: 与正常组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$; 与模型组比较, ⁴⁾ $P<0.05$, ⁵⁾ $P<0.01$

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$; compared with the model group, ⁴⁾ $P<0.05$, ⁵⁾ $P<0.001$

表 4 ACIR 对小鼠血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)及高密度脂蛋白(HDL)含量的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)
Tab 4 Effect of ACIR on TC, TG, LDL and HDL of the mice serum($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	TC/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	TG/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	LDL/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	HDL/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
正常组	—	3.42±0.74	0.64±0.10	1.02±0.29	2.34±0.48
模型组	—	7.55±1.52 ¹⁾	1.77±0.40 ¹⁾	5.10±1.64 ¹⁾	2.11±0.42
ACIR	25	6.58±1.86	0.72±0.16 ³⁾	4.26±1.52	2.08±0.45
ACIR	50	6.14±1.26 ²⁾	0.72±0.15 ³⁾	3.89±0.78 ²⁾	2.12±0.70
ACIR	100	5.94±1.26 ²⁾	0.65±0.12 ³⁾	3.55±0.70 ²⁾	2.13±0.63
奥利司他组	90	6.12±1.20 ²⁾	0.67±0.18 ³⁾	3.71±1.12 ²⁾	2.28±0.47

注：与正常组比较，¹⁾ $P<0.001$ ；与模型组比较，²⁾ $P<0.05$ ，³⁾ $P<0.001$
Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.001$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.001$

3.5 ACIR 对脂肪细胞形态的影响

模型组与正常组比较，小鼠的脂肪细胞数量显著减少，脂肪细胞直径增加，说明模型组造模成功。与模型组相比，在 100 倍数显微镜全视野范围内，ACIR 各剂量组和奥利司他组小鼠的脂肪细胞数目显著增加，脂肪细胞体积均显著减小。细胞形态见图 1。

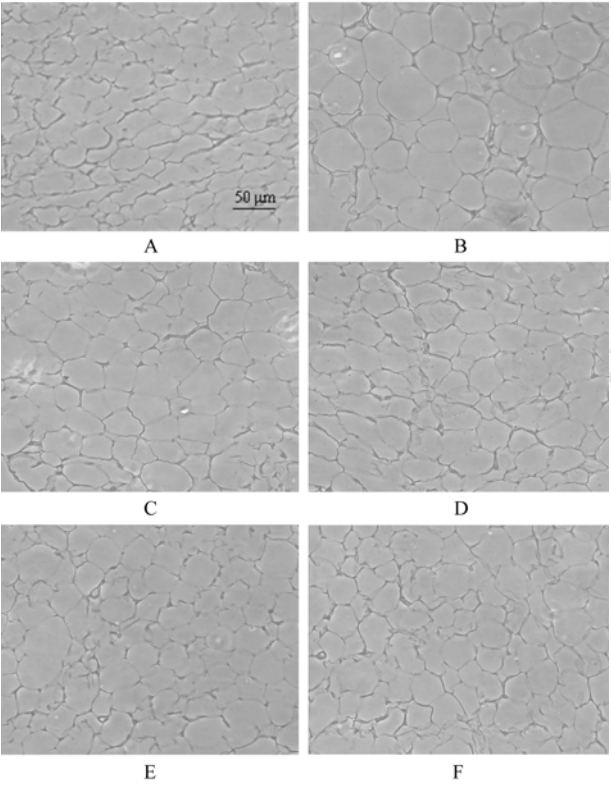


图 1 ACIR 对小鼠脂肪细胞形态的影响(100×)
A—正常组；B—模型组；C—ACIR 25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组；D—ACIR 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组；E—ACIR 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组；F—奥利司他组
Fig 1 Effect of ACIR on fat cell morphology of the mice (100×)
A—normal group; B—model group; C—ACIR 25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ group; D—ACIR 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ group; E—ACIR 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ group; F—Orlistat group

3.6 ACIR 对小鼠耐疲劳能力的影响

模型组小鼠游泳时间与正常组比较显著缩短($P<0.05$)。ACIR 各剂量组及奥利司他组显著延长小鼠负重游泳时间，与模型组比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 5。

表 5 ACIR 对小鼠负重游泳时间的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)
Tab 5 Effect of ACIR on the swimming time of loaded mice($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	动物数/只	游泳时间/min
正常组	—	10	6.22±1.88
模型组	—	10	4.15±1.49 ¹⁾
ACIR	25	10	5.30±1.21 ²⁾
ACIR	50	10	5.51±1.26 ²⁾
ACIR	100	10	5.65±1.38 ²⁾
奥利司他组	90	10	5.49±1.24 ²⁾

注：与正常组比较，¹⁾ $P<0.05$ ；与模型组比较，²⁾ $P<0.05$
Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$

3.7 ACIR 对前脂肪细胞增殖的影响

ACIR 在 5~50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内抑制 3T3-L1 前脂肪细胞增殖。在 24 h 时，ACIR 5, 10, 25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 剂量组可以抑制 3T3-L1 细胞增殖，其中 10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 剂量组抑制作用最为显著。48, 72 h 时，ACIR 10, 25, 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 剂量组可以抑制 3T3-L1 细胞增殖，其中 25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 剂量组对 3T3-L1 前脂肪细胞的生长抑制作用最为显著($P<0.01$)，且随着时间延长，其抑制细胞生长的作用逐渐加强。结果见图 2。

3.8 ACIR 对前脂肪细胞分化的影响

ACIR 全程干预 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程，诱导分化至第 8 天，进行油红 O 染色，结果见图 3。空白对照组 90% 的细胞形成亮红色“戒环样”脂滴，由前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞。随着 ACIR 给药浓度的增加，可观察到被染色的脂滴逐

渐减少, 说明 ACIR 可以抑制脂肪细胞分化成熟。用异丙醇处理染色细胞, 检测 A_{570} 值, 定量检测细胞内脂肪的含量, 25, 50, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 剂量组与空白对照组比较, 成熟脂肪细胞的脂肪含量显著降低, 且呈现明显的剂量依赖性。结果见图 4。

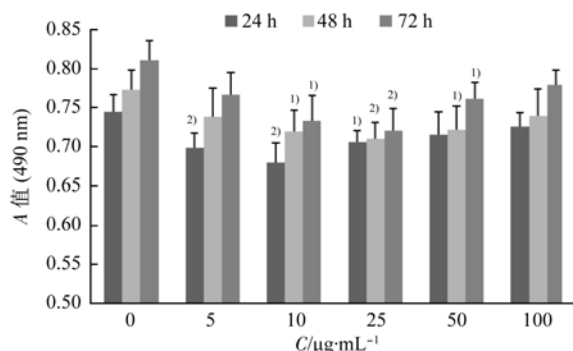


图2 不同浓度 ACIR 在不同时间对前脂肪细胞增殖的影响与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Fig 2 Effect of different concentrations ACIR on the proliferation of preadipocytes in different time Compared with the blank control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

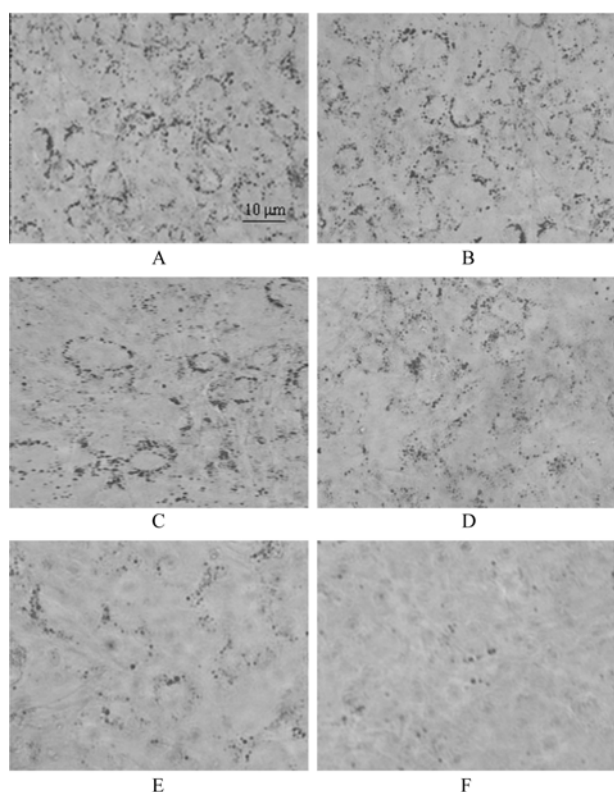


图3 不同浓度 ACIR 对前脂肪细胞分化的影响(400×)

A-空白对照组; B-ACIR 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组; C-ACIR 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组; D-ACIR 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组; E-ACIR 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组; F-ACIR 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组

Fig 3 Effect of different concentrations ACIR on the differentiation of preadipocytes(400×)

A-blank control group; B-ACIR 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ group; C-ACIR 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ group; D-ACIR 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ group; E-ACIR 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ group; F-ACIR 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ group

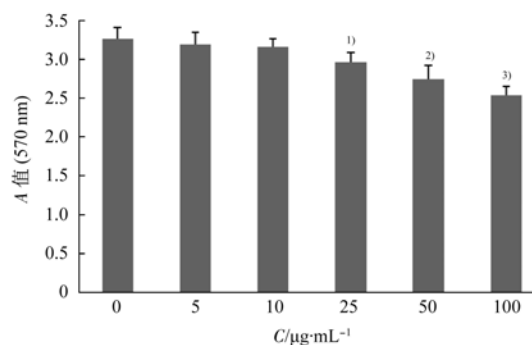


图4 不同浓度 ACIR 对前脂肪细胞分化过程中脂肪积累量的影响

与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$

Fig 4 Effect of different concentrations ACIR on the fat accumulation of preadipocytes in the process of differentiation

Compared with the blank control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$

4 讨论

肥胖症是机体脂肪细胞肥大、数目增多及脂肪堆积和分布异常的一种疾病, 是导致心脑血管疾病的高危因素, 增加了糖尿病、高血压、高脂血症等多种疾病的发病率。抑制脂肪细胞增殖、分化是预防或治疗肥胖的重要策略, 因为肥胖不仅是由于脂肪细胞肥大, 更是脂肪细胞数目异常增加的结果^[6]。已有研究报道某些中药活性成分具有抑制前脂肪细胞增殖和分化, 调控脂肪细胞生长及脂质聚集的功能, 从而起到减轻体重, 调节脂质代谢作用^[7-9]。

板蓝根是中国传统中药, 始载于《神农本草经》, 性寒味苦, 有清热解毒、凉血消肿的功效。在我国, 板蓝根已实现规范化、规模化栽培。随着国际上应用天然药物的增多, 板蓝根的有效成分及其药理活性得到了深入研究。从板蓝根中提取的水溶性多糖是一种重要的生物活性成分, 具有免疫调节、抗肿瘤、抗氧化等多种药理作用。

本研究以高脂饮食肥胖小鼠为实验对象, 观察了 ACIR 在体内预防肥胖效果。实验结果表明, ACIR 可以显著降低小鼠体重、脂肪系数及肝脏重量; 缩小脂肪细胞体积; 减少血清中 TC、TG 和 LDL 含量, 具有一定的预防肥胖和调节血脂作用。实验期间笔者还观察到 ACIR 组小鼠无腹泻情况, 与高脂模型组相比显著提高进食量, 并延长小鼠负重游泳时间, 提示 ACIR 不是通过抑制食欲而达到防治肥胖的目的, 相反还具有一定的促进食欲的功能, 且在减轻体重同时并不影响体力, 这完全符合国际卫生组织所倡导: 不导致腹泻, 不影响

食欲,减轻体重而不降低体力的防治肥胖三原则。

在整体动物实验基础上,本研究以 3T3-L1 细胞株为体外实验模型,采用 MTT 比色法测定 ACIR 对前脂肪细胞增殖的影响,以油红 O 染色观察前脂肪细胞的分化程度,并用比色分析法,检测脂肪细胞内脂滴积聚量的变化。实验结果显示,ACIR 可以在一定的浓度范围内抑制 3T3-L1 前脂肪细胞增殖;随着 ACIR 给药浓度增加,脂肪细胞分化程度呈下降趋势,脂肪细胞内脂肪积聚量也逐渐减少,提示 ACIR 能以剂量依赖性的方式抑制前脂肪细胞分化,降低细胞内脂质聚集。

综上所述,ACIR 可能从抑制前脂肪细胞增殖和分化两方面来影响体内脂肪细胞数量,通过减少脂肪细胞内脂质聚集调节机体脂质水平,从而防止机体脂肪组织堆积异常和代谢紊乱的发生,起到防治肥胖和调节血脂效果。这些研究为 ACIR 的开发利用提供了可靠的实验依据,但是 ACIR 抑制前脂肪细胞增殖和分化的确切机制尚不明确,今后将对此展开进一步研究。

REFERENCES

- [1] JOSE L M, PABLO P M, CARMEN M, et al. Dietary fat, genes and insulin sensitivity [J]. *J Mol Med*, 2007, 85(3): 213-226.

- [2] MA J W, QIAO Z Y, XIANG X. Optimization of extraction procedure for black fungus polysaccharides and effect of the polysaccharides on blood lipid and myocardium antioxidant enzymes activities [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 84(3): 1061-1068.
- [3] GAO X X, MENG X J, LI J H, et al. Study on functions of active polysaccharide from schisandra chinensis (turcz) baill in reducing weight and fat [J]. *Sci Tech Food Ind(食品工业科技)*, 2008, (11): 248-250.
- [4] BAI Y L. Studies on the effect of elaeagnus angustifolia polysaccharide on reducing blood lipid and slimming and antioxidating in rats [D]. Changchun: University of Jilin, 2007.
- [5] LI J P, JIANG H, LIU M X. To observe the effects of polysaccharides from indigowoad root on anti-obesity, regulation of blood lipid and antioxidant [J]. *Her Med(医药导报)*, 2007, 11(26): 58-59.
- [6] FRUHBECK G. Overview of adipose tissue and its role in obesity and metabolic disorders [J]. *Methods Mol Bio*, 2008, 456: 1-22.
- [7] LI H, LI Y P, ZHOU C L, et al. Inhibitory activity to preadipocytes proliferation and antioxidant activity of polysaccharides from portulaca oleracea [J]. *Food Sci Tech(食品科技)*, 2010, 35(9): 233-235.
- [8] POPOVICH D G, LI L, ZHANG W. Bitter melon triterpenoid extract reduces preadipocyte viability, lipid accumulation and adiponectin expression in 3T3-L1 cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(6): 1619-1626.
- [9] XIONG Z D, LI P G, MU T H. The differentiation- and proliferation-inhibitory effects of sporamin from Sweet potato in 3T3-L1 preadipocytes [J]. *Agric Sci China*, 2009, 8(6): 671-677.

收稿日期: 2012-02-23

胃乐煎对慢性萎缩性胃炎模型大鼠作用的实验研究

戴关海, 童晔玲, 张春丽, 杨敏, 陆拯, 杨锋* (浙江省中医药研究院基础实验研究所, 杭州 310007)

摘要: 目的 观察胃乐煎对慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)模型大鼠血清胃泌素含量及胃组织黏膜炎症指标、胃腺体厚度、腺体数量、壁细胞及主细胞的影响。方法 运用综合造模法采用主动免疫+去氧胆酸钠和 30%~60% 乙醇联合刺激复制 CAG 大鼠模型。模型大鼠随机分为胃乐煎高剂量(10.60 g·kg⁻¹)、中剂量(5.30 g·kg⁻¹)、低剂量(2.65 g·kg⁻¹)组、养胃舒(4.0 g·kg⁻¹)阳性对照组及 CAG 模型(生理盐水 10 mL·kg⁻¹)组, 实验同时设正常对照组, 各组动物连续灌胃相应药物 6 周后, 观察大鼠的一般状况, 并取血检测胃泌素, 取胃组织进行病理检查, 观察胃组织黏膜炎症指标、胃腺体厚度、腺体数量、壁细胞及主细胞的情况。结果 胃乐煎对 CAG 模型大鼠体重质量有明显增加作用, 与模型组比差异具有统计学意义($P<0.05\sim0.01$); 胃乐煎能显著增加 CAG 模型大鼠胃腺体数目、腺体厚度、主细胞数目、壁细胞数目, 与模型组比有显著性差异($P<0.05\sim0.001$); 胃乐煎对 CAG 模型大鼠胃组织炎症指标有显著降低作用, 与模型组比差异具有统计学意义($P<0.001$); 胃乐煎对 CAG 模型大鼠血清胃泌素含量有一定的增加作用。结论 胃乐煎对 CAG 大鼠胃组织有明显治疗、保护作用。

关键词: 慢性萎缩性胃炎; Wistar 大鼠; 胃泌素; 胃乐煎; 胃病理组织

基金项目: 浙江省中医药科技计划资助(2010ZB016)

作者简介: 戴关海, 男, 硕士, 副研究员 Tel: (0571)88849082
研究员 Tel: (0571)88849081 E-mail: 88082214@163.com

E-mail: daiguanhai@gmail.com *通信作者: 杨锋, 男, 硕士, 研