

半硫丸调控 AMPK/PPAR γ /GPAT₃ 信号通路对甲减模型大鼠脂质代谢异常的保护作用

曾明星¹, 陈继东^{2,3*}, 向楠², 邹小娟¹

[1. 湖北中医药大学基础医学院, 湖北 武汉 430065; 2. 湖北中医药大学第一临床学院, 湖北 武汉 430061; 3. 湖北省中医院(湖北中医药大学附属医院) 内分泌病科, 湖北 武汉 430070]

摘要: 目的 探讨半硫丸调控 AMPK/PPAR γ /GPAT₃ 信号通路, 改善甲减模型大鼠脂质代谢异常的作用及其机制。方法 60 只 SD 雄性大鼠随机分为正常组、模型组、优甲乐组、半硫丸低剂量组、半硫丸高剂量组、联合用药组, 每组 10 只, 除正常组外, 其余各组大鼠灌胃给予 10 mg/kg 丙硫氧嘧啶 4 周制备甲减模型, 造模成功后干预 6 周, ELISA 法检测血清甲状腺功能及血脂水平, RT-qPCR 法检测肾周脂肪组织 PPAR γ 、GPAT₃ mRNA 表达, Western Blot 法检测肾周脂肪组织 TSHR、AMPK、PPAR γ 、GPAT₃ 蛋白表达。结果 与正常组比较, 模型组大鼠血清 FT₃、FT₄ 降低 ($P < 0.01$), TSH、TG、TC、LDL-C 水平升高 ($P < 0.01$), 肾周脂肪组织 PPAR γ 、GPAT₃ mRNA 表达以及 TSHR、PPAR γ 、GPAT₃ 蛋白表达升高 ($P < 0.01$), p-AMPK 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各给药组大鼠血清 TC、LDL-C 水平降低 ($P < 0.01$), 优甲乐组和联合用药组 TG 水平降低 ($P < 0.01$), 半硫丸各组肾周脂肪组织 PPAR γ mRNA 表达以及 TSHR、PPAR γ 蛋白表达降低 ($P < 0.01$), p-AMPK 蛋白表达升高 ($P < 0.01$), 各给药组 GPAT₃ mRNA 及蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。结论 半硫丸可能通过调控 TSHR 介导的 AMPK/PPAR γ /GPAT₃ 信号通路改善甲减导致的脂质紊乱, 这种机制与优甲乐不同。

关键词: 半硫丸; 甲减; 脂代谢; AMPK/PPAR γ /GPAT₃ 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)02-0611-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.043

甲减是临床上常见的内分泌疾病。在我国, 甲减的患病率已高达 17.8%, 甲减可引起低代谢症群, 进而引起多脏器和组织损伤, 严重威胁身体健康^[1]。其中, 血脂异常是甲减的常见并发症之一, 由此带来的动脉粥样硬化性心血管疾病备受关注^[2]; 同时, 甲减引起的高胆固醇血症还会增加胆结石形成, 引起肝脏脂肪变性, 使得 ALT/SGPT 轻度异常, 非酒精性脂肪性肝病风险增加^[3]; 甲减还可改变卵巢脂质的含量和相关信号通路, 进而影响卵泡的成熟, 引起女性不孕的发生^[4]。可见, 甲减引起的血脂代谢障碍可引起心血管、肝脏、胆囊、生殖等多系统功能障碍, 危害性大, 需要展开深入研究。

Ma 等^[5]研究发现, TSH 可通过与 TSHR 结合, 抑制 AMPK^{Thr172} 磷酸化, 激活 PPAR γ 转录, 进而促进成熟脂肪细胞 GPAT₃ 表达, AMPK/PPAR γ /GPAT₃ 信号通路可能是甲减合并血脂异常的重要机制之一。甲减合并血脂异常属于中医“癯劳”“血浊”病范畴, 其中以脾肾阳虚证最为

多见^[6]。本研究选取具有温肾健脾、化痰通浊功效的经典方剂半硫丸, 探讨其对甲减合并血脂异常的作用及其效应机制, 以期为临床提供新的治疗方法和思路。

1 材料

1.1 动物 5 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠, 体质量 (200 \pm 20) g, 由三峡大学提供, 实验动物生产许可证号 SCXK(鄂)2017-0012, 自由饮食, 温度 20~22℃, 相对湿度 50%~60%, 适应性饲养 1 周, 饲养于湖北中医药大学实验动物中心。本研究经湖北中医药大学实验动物中心动物伦理委员会批准(伦理号 HUCMS202009007)。

1.2 药物 半硫丸胶囊, 0.5 g/粒, 由湖北省中医院药剂科提供, 用生理盐水配成 3% 混悬液备用; 丙硫氧嘧啶片(规格 100 mg, 批号 31180401, 精华制药集团股份有限公司); 左甲状腺素钠片(规格 50 μ g, 批号 241246, 德国 Merck 公司)。

1.3 试剂 苏木素(美国 Sigma 公司, 货号 H9627); 伊

收稿日期: 2023-01-13

基金项目: 国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室建设项目[国中医药人教教育便函(2017)156号]; 湖北省卫计委湖北中医名师工作室建设项目[鄂卫生计生办通(2018)32号]; 湖北中医药大学青苗计划项目(2017ZZX012)

作者简介: 曾明星(1984—), 男, 博士, 讲师, 从事病证结合基础及效应机制以及中医药防治内分泌代谢性疾病研究。Tel: (027) 68890131, E-mail: zengmingxing001@126.com

* **通信作者:** 陈继东(1969—), 男, 博士, 教授, 从事中医药治疗内分泌代谢性疾病的研究。Tel: (027) 88929306, E-mail: dondong@139.com

红Y (水溶性, 国药集团化学试剂有限公司, 货号71014544); 大鼠促甲状腺素 (TSH)、游离甲状腺素 (FT₄)、游离三碘甲状腺原氨酸 (FT₃) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 货号E-EL-R0976c、E-EL-0122c、E-EL-0079c); 兔多抗 GAPDH (杭州贤至生物科技有限公司, 货号AB-P-R001); 兔多抗 GPAT₃、PPAR γ 、p-AMPK (美国 Affinity Biosciences 公司, 货号 Af0485、Af6284、Af3422); 兔多抗 AMPK (英国 Abcam 公司, 货号 Ab131512); HRP 标记羊抗兔二抗、兔多抗 TSHR (武汉博士德生物工程有限公司, 货号 BA1054、A00576-1)。

1.4 仪器 全自动生化分析仪 (美国 Rayto 公司, 型号 Chemray); 病理切片机 (德国 Leica 公司, 型号 RM 2016); 组织摊烤片机 (武汉俊杰实业集团有限公司, 型号 JK-6); 显微镜 (日本 Olympus 公司, 型号 BX53); 微型高速离心机 (美国 Labnet 公司, 型号 C2500-R-230V); 电热恒温培养箱 (日本 ASONE 公司, 型号 ICV-450); 多功能酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司, 型号 Flex Station 3); 垂直电泳槽、电转仪 (北京六一仪器有限公司, 型号 DYCZ-24DN、DYCZ-40); 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司, 型号 QuantStudio 6); 水平电泳仪、紫外分析仪 (北京君意东方电泳设备有限公司, 型号 JY300、JY02S)。

2 方法

2.1 造模与分组 将 60 只 SD 大鼠随机分为正常组 (10 只), 灌胃给予等体积生理盐水; 造模组 (50 只), 灌胃给予含 10 mg/kg 丙硫氧嘧啶片的生理盐水, 连续 28 d。造模成功后, 将模型大鼠随机分为模型组、优甲乐组、半硫丸低剂量组、半硫丸高剂量组和联合用药组 (优甲乐联合半硫丸), 每组 10 只。药物剂量按实验动物与人体表面积比换算, 即 200 g 大鼠所需剂量相当于成人量 $\times 0.018$ 。

2.2 给药 优甲乐组大鼠每天灌胃给予 0.04% 优甲乐混悬液 1.8 mL, 半硫丸低、高剂量组大鼠每天分别灌胃给予 3% 半硫丸混悬液 0.9、1.8 mL, 联合用药组大鼠每天灌胃给予 0.04% 优甲乐混悬液 0.9 mL 和 3% 半硫丸混悬液 0.9 mL, 正常组、模型组大鼠灌胃给予等体积生理盐水, 持续 6 周。

2.3 标本制备 麻醉各组大鼠, 经心脏采血, 分离血清用于甲状腺功能和血脂检测, 每组 8 只大鼠断头处死, 分别取甲状腺、肾周脂肪, 置于 -70 °C 保存, 用于形态学检查、相关蛋白和 mRNA 表达检测。

2.4 ELISA 法检测大鼠甲状腺功能、血脂水平 按照相关试剂盒说明书操作, 检测各组大鼠的甲状腺功能相关指标 (FT₃、FT₄、TSH) 和血脂水平 (TC、TG、LDL、HDL)。

2.5 HE 染色观察肾周脂肪组织 取相应组织, 固定、脱水、包埋、切片、脱蜡、染色, 显微镜下观察并拍照。

2.6 RT-qPCR 法检测肾周脂肪组织 PPAR γ 、GPAT₃ mRNA 表达 通过 Primer Premier 5.0 软件设计引物, 由武汉擎科生物技术有限公司合成, 引物序列为 PPAR γ 正向 5'-

GACATCCCGTTCACAAGAGC-3', 反向 5'-GCTCTTCATGTGGCTGTG-3', 产物长度 151 bp; GPAT₃ 正向 5'-CATCATGCCAAAGCTCACCA-3', 反向 5'-ACAGGGAGCGAACACAGATC-3', 产物长度 212 bp。扩增反应条件为 50 °C 2 min, 95 °C 10 min; 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 共 40 个循环。绘制熔解曲线, 数据以 2^{- $\Delta\Delta C_T$} 法进行分析, 计算目的基因的 mRNA 相对表达量。

2.7 Western blot 法检测肾周脂肪组织 TSHR、p-AMPK、PPAR γ 、GPAT₃ 蛋白表达 提取大鼠肾周脂肪组织总蛋白, 检测蛋白浓度, 蛋白通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分离并转移至 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉溶液封闭 2 h, 4 °C 下分别加入兔多抗 TSHR (1 : 500)、GPAT₃ (1 : 1 000)、PPAR γ (1 : 1 000)、p-AMPK (1 : 1 000)、AMPK (1 : 500)、GAPDH (1 : 1 000) 抗体孵育 24 h。用 TBST 稀释相应的 HRP 标记二抗 (1 : 50 000), 使 PVDF 膜浸泡于二抗孵育液中, 室温摇床孵育 2 h, 显影、曝光, 采用 IPP 6.0 分析软件对各组条带进行分析, 得到蛋白相对表达量。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 24.0 软件进行处理, 计量资料均符合正态分布且方差齐, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 法。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 半硫丸对甲减大鼠肾周脂肪组织病理形态的影响 与正常组比较, 模型组大鼠脂肪滴明显聚集增多; 与模型组比较, 各给药组脂肪滴聚集改善; 与优甲乐组比较, 半硫丸各剂量组与联合用药组改善更为明显; 与半硫丸低剂量组比较, 半硫丸高剂量组效果更好, 见图 1。

3.2 半硫丸对甲减大鼠血清 FT₃、FT₄、TSH 水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清 FT₃、FT₄ 水平降低 (P < 0.01), TSH 水平升高 (P < 0.01); 与模型组比较, 优甲乐组和联合用药组大鼠血清 FT₃、FT₄ 水平升高 (P < 0.01), TSH 水平降低 (P < 0.01), 而半硫丸高、低剂量组改变不明显, 没有统计学差异 (P > 0.05), 见表 1。

表 1 半硫丸对甲减大鼠血清 FT₃、FT₄、TSH 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	FT ₃ /(pg·mL ⁻¹)	FT ₄ /(pg·mL ⁻¹)	TSH/(ng·mL ⁻¹)
正常组	39.94 \pm 2.52	38.16 \pm 2.94	19.70 \pm 5.70
模型组	20.78 \pm 2.66**	15.26 \pm 2.24**	44.33 \pm 10.05**
优甲乐组	36.07 \pm 1.58###	31.75 \pm 2.31###	24.88 \pm 3.86###
半硫丸低剂量组	22.41 \pm 3.75	16.18 \pm 3.00	40.00 \pm 8.72
半硫丸高剂量组	25.00 \pm 4.37	17.14 \pm 2.28	34.38 \pm 9.41
联合用药组	30.23 \pm 3.97###	25.77 \pm 2.97###	29.89 \pm 2.34###

注: 与正常组比较, **P < 0.01; 与模型组比较, ###P < 0.01。

3.3 半硫丸对甲减大鼠血清 TC、TG、LDL、HDL 水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平升高 (P < 0.01), HDL-C 水平无明显变化 (P > 0.05); 与模型组比较, 各给药组大鼠血清 TC、LDL-C 水平降低 (P < 0.01), 优甲乐组和联合用药组大鼠血清 TG 水平降低 (P < 0.01), 见表 2。

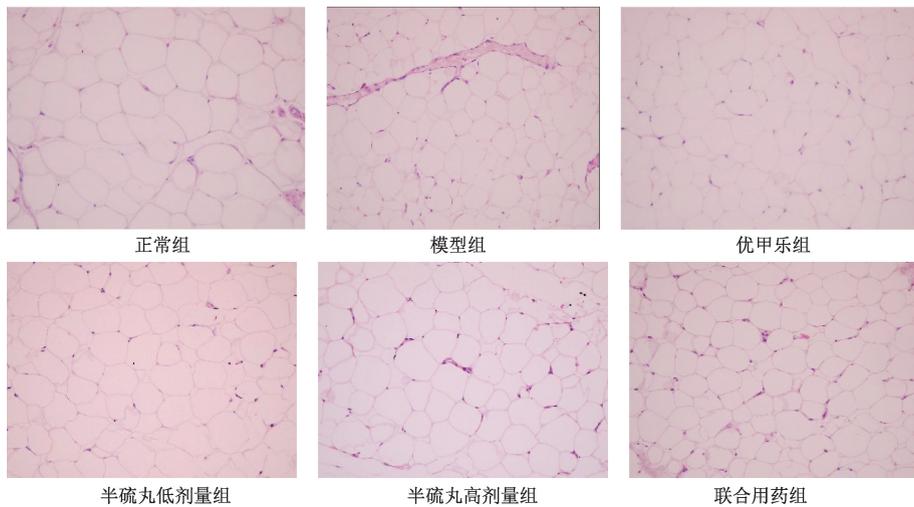


图1 各组大鼠肾周脂肪组织 HE 染色 (×200)

表2 半硫丸对甲减大鼠血清 TC、TG、LDL、HDL 水平的影响 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	TC	TG	LDL-C	HDL-C
正常组	3.07±0.14	1.80±0.17	1.10±0.16	1.57±0.23
模型组	4.64±0.16**	2.25±0.20**	2.87±0.08**	1.28±0.24
优甲乐组	3.14±0.17##	1.84±0.10##	1.24±0.18##	1.42±0.28
半硫丸低剂量组	3.70±0.40##	1.99±0.10	2.07±0.20##	1.30±0.14
半硫丸高剂量组	3.52±0.33##	1.86±0.15	1.90±0.20##	1.54±0.32
联合用药组	3.25±0.11##	1.85±0.40##	1.55±0.11##	1.40±0.12

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.01$ 。

3.4 半硫丸对甲减大鼠肾周脂肪组织 PPAR γ 、GPAT₃ mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠肾周脂肪组织 PPAR γ 、GPAT₃ mRNA 表达升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,半硫丸各剂量组和联合用药组大鼠肾周脂肪组织 PPAR γ mRNA 表达降低 ($P < 0.01$),各给药组大鼠肾周脂肪组织 GPAT₃ mRNA 表达降低 ($P < 0.01$),见表3。

3.5 半硫丸对甲减大鼠肾周脂肪组织 TSHR、p-AMPK、PPAR γ 、GPAT₃ 蛋白表达的影响 与正常组比较,半模型组大鼠肾周脂肪组织 TSHR、PPAR γ 、GPAT₃ 蛋白表达升高 ($P < 0.01$),p-AMPK 蛋白表达降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,半硫丸各剂量组和联合用药组大鼠肾周脂肪组织 TSHR、PPAR γ 、GPAT₃ 蛋白表达降低 ($P < 0.01$),p-

表4 半硫丸对甲减大鼠肾周脂肪组织 TSHR、p-AMPK、PPAR γ 、GPAT₃ 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	TSHR	p-AMPK	PPAR γ	GPAT ₃
正常组	0.32±0.04	0.63±0.02	0.10±0.01	0.31±0.03
模型组	0.82±0.09**	0.17±0.04**	0.51±0.04**	0.67±0.05**
优甲乐组	0.74±0.07	0.22±0.04	0.48±0.04	0.33±0.04##
半硫丸低剂量组	0.66±0.06##	0.31±0.04##	0.41±0.03##	0.47±0.06##
半硫丸高剂量组	0.54±0.05##	0.34±0.04##	0.31±0.04##	0.52±0.06##
联合用药组	0.53±0.04##	0.39±0.09##	0.30±0.03##	0.47±0.04##

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.01$ 。

4 讨论

甲减是继发性血脂异常的常见病因^[7]。升高的血脂可以影响内膜厚度,促进高血压发展^[8],严重者可出现心衰^[9]。甲状腺激素治疗虽能改善脂代谢状态,但需终生服药,同时也增加了心血管疾病的风险^[10],而中医药在防治

AMPK 蛋白表达升高 ($P < 0.01$),优甲乐组大鼠肾周脂肪组织 GPAT₃ 蛋白表达降低 ($P < 0.01$),见表4、图2。

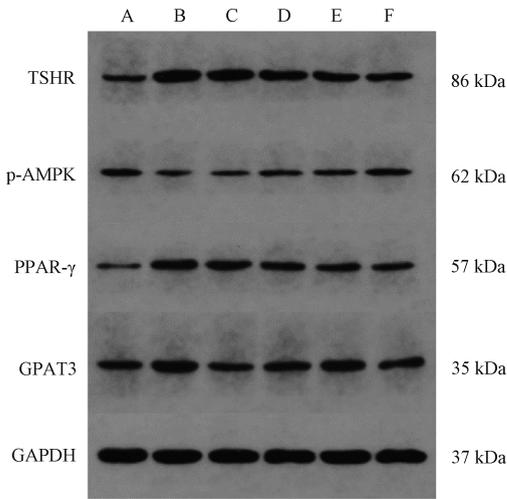
表3 半硫丸对甲减大鼠肾周脂肪组织 PPAR γ 、GPAT₃ mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	PPAR γ	GPAT ₃
正常组	0.98±0.11	1.01±0.14
模型组	2.68±0.26**	1.84±0.19**
优甲乐组	2.51±0.13	1.11±0.11##
半硫丸低剂量组	2.18±0.18##	1.15±0.12##
半硫丸高剂量组	1.74±0.21##	1.15±0.26##
联合用药组	1.65±0.16##	1.16±0.19##

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.01$ 。

甲减及合并症方面具有一定的优势和特色^[11]。

甲减属于中医“癭劳”病范畴,以脾肾阳虚为主,可夹杂痰湿、瘀血、郁热等变证^[12-14]。半硫丸出自《太平惠民和剂局方》,可用于甲减的治疗,疗效颇佳,半硫丸能降低 The 水平^[15],但具体机制不清。研究发现,敲除 TSHR



注 A~F 分别为正常组、模型组、优甲乐组、半硫丸低剂量组、半硫丸高剂量组、联合用药组。

图 2 肾周脂肪组织 TSHR、p-AMPK、PPAR γ 、GPAT3 蛋白条带图

可增加脂肪细胞的大小，减少 TSH 诱导的脂解^[16]。Ma 等^[5]研究发现，TSH 与 TSHR 结合后，可抑制 AMPK^{Thr172}磷酸化，激活 PPAR γ 转录，增加 GPAT₃ 表达，增加 TG 的生成。本研究发现甲减大鼠血清 TG、TC、LDL-C 水平升高，提示甲减合并血脂紊乱^[17]。还发现，肾周脂肪组织 PPAR γ 、GPAT₃ mRNA 基因表达升高，TSHR、PPAR γ 、GPAT₃ 蛋白表达升高，p-AMPK 蛋白表达降低，提示其存在 AMPK/PPAR γ /GPAT₃ 信号通路异常表达^[5]。

AMPK 激活后通过下调脂肪生成酶，抑制脂肪酸合成，促进游离脂肪酸氧化，减少脂质合成^[18]。本研究中甲减大鼠 p-AMPK 蛋白表达较正常组降低，AMPK 信号通路被抑制，脂肪酸合成增加，PPAR γ 表达上调，进而导致血脂升高。PPAR γ 活化后通过参与脂代谢相关基因的调控，抑制脂质代谢。PPAR γ 表达升高可能是模型组脂滴过度积聚的原因，半硫丸能抑制 PPAR γ 的表达，抑制脂滴的积累。综合半硫丸能升高 p-AMPK 蛋白表达，降低 PPAR γ 蛋白表达，推测半硫丸可能是通过激活 AMPK 信号通路，下调 PPAR γ 表达，进而限制脂肪生成，减少脂质合成，起到改善脂质代谢的作用^[19]。

特定的 GPAT 亚型在不同的细胞中启动甘油三酯的合成^[20]，GPAT₃ 主要位于内质网^[21]，是一种参与 TG 合成的限速酶^[22]。在本研究中，模型组脂滴增大，GPAT₃ 表达升高；经半硫丸给药后，脂滴的数量减少和大小变小，同时 GPAT₃ mRNA 和蛋白表达降低，这可能与半硫丸降低 GPAT₃ 表达，减少 TG 合成有关。综合半硫丸能升高 p-AMPK 蛋白表达，降低 PPAR γ 的表达，推测随着 TSH 水平和 TSHR 蛋白表达降低，AMPK/PPAR γ /GPAT₃ 通路被抑制，血脂水平随之下降。

综上所述，各药物干预均能有效降低血脂水平，优甲乐和半硫丸均能下调 GPAT₃ mRNA 表达，半硫丸还能下调

PPAR γ mRNA 表达，降低 TSHR、PPAR γ 、GPAT₃ 蛋白表达，升高 p-AMPK 蛋白表达；联合用药组降低 TG 的效果与优甲乐组相当，联合用药后还可降低 TSHR、PPAR γ 蛋白表达，提示半硫丸的加入起到了减量增效作用。因此，半硫丸可能通过多靶点调控 AMPK/PPAR γ /GPAT₃ 信号通路，在改善甲减合并脂质代谢紊乱中发挥重要作用。

参考文献：

- [1] Shan Z Y, Chen L L, Lian X L, *et al.* Iodine status and prevalence of thyroid disorders after introduction of mandatory universal salt iodization for 16 years in China; a cross-sectional study in 10 cities[J]. *Thyroid*, 2016, 26(8): 1125-1130.
- [2] 赵家军, 杨利波. 甲状腺功能减退与血脂异常[J]. 中国实用内科杂志, 2014, 34(4): 340-343.
- [3] Piantanida E, Ippolito S, Gallo D, *et al.* The interplay between thyroid and liver: implications for clinical practice [J]. *J Endocrinol Invest*, 2020, 43(7): 885-899.
- [4] Rodríguez-Castelán J, Méndez-Tepepa M, Rodríguez-Antolín J, *et al.* Hypothyroidism affects lipid and glycogen content and peroxisome proliferator-activated receptor δ expression in the ovary of the rabbit [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2018, 30(10): 1380-1387.
- [5] Ma S Z, Jing F, Xu C, *et al.* Thyrotropin and obesity: increased adipose triglyceride content through glycerol-3-phosphate acyltransferase 3[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 7633.
- [6] 张常国. 甲状腺功能减退症患者血脂异常的中医证型分布规律初探[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [7] 赵家军. 甲减致血脂异常的治疗[J]. 药品评价, 2012, 9(13): 32-34.
- [8] Berta E, Lengyel I, Halmi S, *et al.* Hypertension in thyroid disorders [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 17(10): 482.
- [9] Stamatouli A, Bedoya P, Yavuz S. Hypothyroidism: cardiovascular endpoints of thyroid hormone replacement [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 9(10): 888.
- [10] 中华医学会内分泌学分会. 成人甲状腺功能减退症诊治指南[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2017, 33(2): 167-180.
- [11] 蒋里, 赵进喜. 甲状腺功能减退症中医临床研究述评[J]. 北京中医药, 2021, 40(11): 1178-1182.
- [12] 曾明星, 陈继东, 向楠, 等. 陈如泉辨治甲状腺功能减退症特色探析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(8): 1070-1072; 1079.
- [13] 郑曙琴, 于世家. 于世家教授治疗甲状腺功能减退症经验[J]. 福建中医药, 2021, 52(4): 52-53.
- [14] 房聪聪, 陈如泉. 陈如泉教授治疗甲状腺功能减退症合并贫血经验[J]. 世界中医药, 2017, 12(4): 853-856.
- [15] 张宏伟, 陈如泉. 半硫丸对家兔实验性甲减的治疗作用[J]. 中医药研究, 1993(3): 43-44.
- [16] Elgadi A, Zemack H, Marcus C, *et al.* Tissue-specific knockout of TSHr in white adipose tissue increases adipocyte size and decreases TSH-induced lipolysis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 393(3): 526-530.

- [17] 杨云, 王佑民. 原发性甲状腺功能减退症患者血脂谱变化的特点[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(9): 1361-1365.
- [18] 吴雯, 梁凯伦, 陈波, 等. 桑叶提取物对食源性肥胖大鼠的减肥作用及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(9): 1757-1761.
- [19] Zhang S, Wang L, Zan L S. Investigation into the underlying molecular mechanisms of white adipose tissue through comparative transcriptome analysis of multiple tissues[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(2): 959-966.
- [20] Wendel A A, Lewin T M, Coleman R A. Glycerol-3-phosphate acyltransferases: rate limiting enzymes of triacylglycerol biosynthesis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1791(6): 501-506.
- [21] Cao J, Perez S, Goodwin B, et al. Mice deleted for GPAT3 have reduced GPAT activity in white adipose tissue and altered energy and cholesterol homeostasis in diet-induced obesity[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014, 306(10): E1176-E1187.
- [22] Pagac M, Cooper D, Qi Y F, et al. SEIPIN regulates lipid droplet expansion and adipocyte development by modulating the activity of glycerol-3-phosphate acyltransferase[J]. *Cell Rep*, 2016, 17(6): 1546-1559.

六味地黄丸对阿尔茨海默病秀丽隐杆线虫模型的神经保护作用

雷霞^{1,2}, 王加朋², 佟玉良³, 张金凤², 苏婷³, 于浩³, 金美玲², 徐红丹^{4*}, 张宁^{2*}

(1. 南京中医药大学无锡附属医院, 江苏省中医退行性骨关节病临床医学创新中心, 江苏 无锡 214071; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 4. 无锡卫生高等职业技术学校, 江苏 无锡 214028)

摘要: 目的 从线粒体功能损伤角度探讨六味地黄丸提取物对阿尔茨海默病(AD)秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)模型的神经保护作用。方法 以*C. elegans*为模式生物, 实验分为空白组(CL2122型)、模型组(CL2355型)、阳性药组(CL2355型, 50 mmol/L 二甲双胍)和六味地黄丸低、中、高剂量组(CL2355型, 0.5、1.0、2.0 mg/mL)。通过行为学方法观察线虫的学习记忆能力, Western blot法检测线虫体内磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶(p-AMPK)、沉默信息调节因子1(SIRT1)蛋白表达, RT-qPCR法检测*paqr-1*、*aak-1*、*sir-2.1* mRNA表达。结果 六味地黄丸提取物提高了模型组线虫的化学趋向性($P<0.01$), 并显著改善其学习记忆能力。与空白组比较, 模型组p-AMPK和SIRT1蛋白表达降低($P<0.01$), *aak-1*、*sir-2.1*、*paqr-1* mRNA表达降低($P<0.01$); 与模型组比较, 阳性药组和六味地黄丸中、高剂量组p-AMPK和SIRT1蛋白表达升高($P<0.01$), *aak-1*、*sir-2.1*、*paqr-1* mRNA表达升高($P<0.01$)。结论 六味地黄丸通过增强AD模型线虫脂联素受体1(AdipoR1)表达, 激活AMPK/SIRT1信号通路改善中枢神经线粒体功能, 修复神经元损伤, 从而发挥对AD模型线虫的神经保护作用。

关键词: 六味地黄丸; 阿尔茨海默病; 秀丽隐杆线虫; 线粒体损伤; AMPK/SIRT1信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)02-0615-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.044

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种与年龄相关的中枢神经系统疾病, 目前AD患者已超过3 500万人^[1]。有研究表明, 在受AD影响的海马神经元中, 常出

现线粒体功能障碍和生物能量缺陷, 而这些异常在出现AD症状之前就已经存在。线粒体功能障碍导致细胞能量缺陷和氧化损伤引发A β 沉积, 进一步导致认知缺陷^[2]。因此,

收稿日期: 2023-04-07

基金项目: 黑龙江省自然科学基金(LH2020H097); 黑龙江省中医药科研项目(ZHY202088); 无锡市卫生健康委中青年拔尖人才资助计划(BJ2023072)

作者简介: 雷霞(1982—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事滋阴清热中药抗阿尔茨海默病的机制研究。Tel: 18045454111, E-mail: leixia2006@163.com

*通信作者: 徐红丹(1984—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事滋阴清热中药抗更年期抑郁症的机制研究。Tel: 15961862369, E-mail: xuhd1984@126.com

张宁(1974—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及体内代谢研究。Tel: (0454) 6050350, E-mail: zhangning0454@163.com