

[药 理]

## 小檗碱与吴茱萸碱配伍对高胆固醇血症大鼠小肠 ACAT2、ApoB48 和 NPC1L1 表达的影响

周 昕, 魏 宏, 沈 涛\*, 魏江平, 任佳月, 倪恒凡  
(成都中医药大学, 四川 成都 610075)

**摘要:** **目的** 研究小檗碱与吴茱萸碱配伍对高胆固醇血症大鼠小肠酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 2 (ACAT2)、载脂蛋白 B48 (ApoB48) 和尼曼-匹克 C1 型类似蛋白 1 (NPC1L1) 表达的影响。**方法** 50 只 SD 大鼠分成空白对照组和 4 个造模组, 造模组 40 只大鼠给予高脂、高胆固醇饲料喂养建立高胆固醇血症大鼠模型, 将造模成功的大鼠随机均分为模型对照组、阿托伐他汀组、小檗碱-吴茱萸碱配伍组 (89.2、178.4 mg/kg), 给予相应药物干预 4 周, 检测血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平, 气相色谱法测定各组动物血清中总胆固醇、 $\beta$ -谷固醇水平, 免疫组化法测定各组大鼠小肠组织 ACAT2、ApoB48 和 NPC1L1 蛋白表达。**结果** 89.2、178.4 mg/kg 配伍组能显著降低高胆固醇血症大鼠血清 TC、TG 和肝脏 TC 水平 ( $P < 0.01$ ), 89.2 mg/kg 配伍组还能显著降低高胆固醇血症大鼠血清 LDL-C 和肝脏 TG 水平 ( $P < 0.05$ ); 气相色谱结果表明, 178.4 mg/kg 配伍组大鼠血清总胆固醇、 $\beta$ -谷固醇水平较模型对照组显著降低 ( $P < 0.05$ ), 89.2 mg/kg 配伍组极显著降低 ( $P < 0.01$ ); 免疫组化结果显示, 小檗碱与吴茱萸碱配伍 2 个剂量组 ACAT2、ApoB48 和 NPC1L1 平均光密度值较模型对照组均显著降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。**结论** 小檗碱与吴茱萸碱配伍可通过下调高胆固醇血症大鼠小肠 ACAT2、ApoB48 和 NPC1L1 的表达调节机体胆固醇代谢。

**关键词:** 小檗碱; 吴茱萸碱; 高胆固醇血症; 大鼠; ACAT2; ApoB48; NPC1L1

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)10-1993-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.10.001

## Effects of berberine-evodiamine compatibility on expressions of intestinal ACAT2, ApoB48 and NPC1L1 in hypercholesterolemic rat

ZHOU Xin, WEI Hong, SHEN Tao\*, WEI Jiang-ping, REN Jia-yue, NI Heng-fan  
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

**ABSTRACT: AIM** To investigate the effects of berberine-evodiamine compatibility on expressions of intestinal acyl-CoA: cholesterol acyltransferase 2 (ACAT2), apolipoprotein B48 (ApoB48), and Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) proteins in hypercholesterolemic rats. **METHODS** Fifty SD rats were assigned to control and model groups. After establishing the hypercholesterolemic rat model by feeding high fat and high cholesterol food, forty SD rats were equally divided into model control group, atorvastatin group, berberine-evodiamine compatibility groups (89.2 mg/kg, 178.4 mg/kg). After four weeks treatment, serum triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were detected. Then the contents of cholesterol and  $\beta$ -sitosterol in serum were determined by GC. The expressions of ACAT2, ApoB48 and NPC1L1 proteins in the small intestine were assayed with immunohistochemistry technology. **RESULTS** Serum TC, TG and liver TC were significantly decreased in 89.2 mg/kg and 178.4 mg/kg berberine-

收稿日期: 2017-05-04

基金项目: 国家自然科学基金 (81373545, 81703844); 国家重点基础研究发展计划课题 (2013CB532005); 四川省教育厅课题 (17ZB0147)

作者简介: 周 昕 (1983—), 女, 实验师, 博士生, 从事方剂配伍规律的理论及实验研究。E-mail: cindychouff@163.com

\* 通信作者: 沈 涛 (1963—), 男, 教授, 博士, 博士生导师, 从事治则治法与方剂的理论及运用研究。Tel: (028) 61800019, E-mail: st1963@263.net

evodiamine compatibility groups compared with those in the model control group ( $P < 0.01$ ). Serum LDL-C and liver TC were also significantly decreased in 89.2 mg/kg berberine-evodiamine compatibility group ( $P < 0.05$ ). GC analysis indicated that the amount of cholesterol level and  $\beta$ -sitosterol in serum were decreased in 178.4 mg/kg berberine-evodiamine compatibility group ( $P < 0.05$ ) and 89.2 mg/kg berberine-evodiamine compatibility group ( $P < 0.01$ ). Immunohistochemistry analysis manifested that the average luminous density of ACAT2, ApoB48 and NPC1L1 proteins in two dosages of berberine-evodiamine compatibility group were descended markedly compared with those in the model control group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **CONCLUSION** The mechanisms underlying the cholesterol metabolism activity of berberine-evodiamine compatibility are mediated most likely by down-regulating the expressions of intestinal ACAT2, ApoB48 and NPC1L1 proteins in hypercholesterolemic rats.

**KEY WORDS:** berberine; evodiamine; hypercholesterolemia; rat; ACAT2; ApoB48; NPC1L1

高胆固醇血症 (hypercholesterolemia) 是以体内胆固醇浓度过高 (特别是低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C) 为主要表现的胆固醇代谢紊乱疾病, 是引发动脉粥样硬化的直接诱因, 严重威胁人类健康<sup>[1-2]</sup>。小肠是胆固醇代谢的重要场所, 研究表明尼曼-匹克 C1 型类似蛋白 1 (NPC1L1) 是肠道胆固醇吸收的关键蛋白, 在胆固醇的吸收过程中起关键作用<sup>[3-4]</sup>, 酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 2 (ACAT2) 和载脂蛋白 B48 (ApoB48) 是参与胆固醇酯化的重要蛋白<sup>[5-6]</sup>, 二者与小肠内胆固醇的酯化、吸收关系密切。课题组前期研究表明, 黄连、吴茱萸 1:1 比例配伍具有良好的降血脂作用, 其降脂效应的物质基础是生物碱类, 且其降脂作用可能与调节胆固醇代谢相关<sup>[7-9]</sup>, 但它是否通过调节 NPC1L1、ApoB48 和 ACAT2 的表达而达到降脂效应尚无相关文献报道, 因此本实验以小檗碱、吴茱萸配伍作为研究对象, 以高脂、高胆固醇饲料喂养大鼠建立高胆固醇血症模型, 通过检测大鼠小肠 NPC1L1、ApoB48 和 ACAT2 的表达, 探索其对高胆固醇血症大鼠体内胆固醇代谢的影响。

## 1 材料与方法

1.1 实验药物 根据前期最优配比剂量<sup>[9]</sup>, 黄连、吴茱萸配伍比例为 1:1, 参考 2010 年版《中国药典》<sup>[10]</sup>, 取黄连、吴茱萸每日最大用量即为 5 g。黄连、吴茱萸等比配伍时, 所含小檗碱和吴茱萸碱比例为 31.1:7.1<sup>[11]</sup>, 换算为小鼠剂量, 即总碱剂量为 44.6 mg/kg。在此基础上取其 2、4 倍作为本实验给药剂量, 即 89.20 (其中小檗碱为 72.60 mg/kg, 吴茱萸碱为 16.60 mg/kg)、178.40 mg/kg (其中小檗碱为 145.20 mg/kg, 吴茱萸碱为 33.20 mg/kg), 所配药物均采用 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC) 研磨助溶配制。药物配制均

由成都中医药大学国家中医药管理局中药药理三级实验室制备, 编号 TCM2032043。小檗碱 (成都瑞特恩科技有限公司, 批号 RL20140906); 吴茱萸碱 (成都瑞特恩科技有限公司, 批号 RL20140828); 阿托伐他汀钙片 (辉瑞制药有限公司, 批号 N37495); 羧甲基纤维素钠 (成都市科龙化工试剂厂, 批号 20120727)。

1.2 实验动物 清洁级 SD 大鼠 50 只, 雄性, 体质量 ( $200 \pm 20$ ) g, 由成都达硕实验动物科技有限公司提供, 合格证号 SCXK (川) 2013-24。

1.3 试剂 胆固醇 (批号 20060705, 成都科龙化工试剂厂); 猪胆酸钠 (批号 20061022, 北京奥博星生物技术责任有限公司); 丙硫氧嘧啶 (批号 060401, 上海复兴朝晖药液有限公司); 血清总胆固醇 (total cholesterol, TC) 试剂盒 (批号 PLL-2016-08)、血清甘油三酯 (triglycerides, TG) 试剂盒 (批号 PLL-2016-08)、组织总胆固醇酶法测定试剂盒 (批号 APP-2017-01)、组织甘油三酯酶法测定试剂盒 (批号 APP-2017-01) 购自北京普利莱基因技术有限公司; 高密度脂蛋白胆固醇试剂盒 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) (批号 20160812)、低高密度脂蛋白胆固醇试剂盒 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) (批号 20160818) 购自南京建成生物工程研究所; ACAT2 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 批号 14755-1-AP); ApoB48 抗体 (美国 Origene 公司, 批号 TA323678); NPC1L1 抗体 (赛默飞世尔科技中国有限公司, 批号 PA1-16800); 生物素二抗 (北京中山金桥生物有限公司, 批号 SP-9001)。

1.4 仪器 3001 型全自动酶标仪 (Thermo electron corporation 公司); 7020 型全自动生化仪 (日立有限公司); DM3000 型显微镜 (德国 LEICA 公司); Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统 (美国

Media Cybernetics 公司); UV Transilluminator 化学发光凝胶成像仪、ChemiDoc XRS + Systems 凝胶扫描成像仪、Image Lab 凝胶成像分析系统 (美国 BIO-RAD 公司); Agilent 7890A 气相色谱仪 (美国 Agilent 公司)。

### 1.5 方法

1.5.1 造模、分组及给药 SD 大鼠 50 只适应性喂养 1 周, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为空白对照组和 4 个造模组。空白对照组给予普通饲料喂养, 造模组给予高脂、高胆固醇饲料喂养<sup>[12]</sup>。各组动物在室温 22 ~ 24 °C, 相对湿度 40% ~ 60%, 明暗周期 12 h / 12 h 条件下喂养。造模 4 周, 期间动物自由饮水摄食, 每日更换鼠粮、清洁笼具。造模 4 周后, 将造模组大鼠随机分为模型对照组、阿托伐他汀组、小檗碱-吴茱萸碱配伍组 (89.2、178.4 mg/kg)。每日灌胃 1 次, 给药体积 10 mL/kg, 模型对照组给予等体积 0.5% CMC 溶液, 连续灌胃 4 周。实验第 8 周末, 动物禁食 12 h 后水合氯醛麻醉, 腹主动脉采血 5 mL, 静置 30 min, 3 000 r/min 离心 10 min, -80 °C 冻存备用; 动物处死后, 取肝脏、小肠, 生理盐水清洗, -80 °C 保存待测。

1.5.2 血脂水平检测 血清 TG、TC、HDL-C、LDL-C 测定依据试剂盒说明书操作。

1.5.3 肝脏 TC、TG 检测 各组大鼠肝脏组织匀浆, 依照试剂盒说明进行肝脏蛋白定量检测以及肝组织 TC、TG 检测。

1.5.4 血清总胆固醇、β-谷固醇测定 采用气相

色谱法 (gas chromatography, GC) 检测各组动物血清中总胆固醇、β-谷固醇水平, 操作参照文献已有方法<sup>[13]</sup>, 具体为: 以 5α-胆甾烷作为内标, 取各组大鼠血清与内标溶液混合、皂化、提取, 萃取到正己烷层, TMS 衍生化后进行 GC 检测分析。

1.5.5 免疫组化法检测 NPC1L1、ApoB48 和 ACAT2 蛋白表达 取各组动物小肠组织, 中性福尔马林固定, 4 ~ 6 h 后更换固定液, 石蜡包埋切片, 免疫组化操作流程按病理检验 SOP 程序进行, 用 BA200Digital 数码三目摄像显微摄像系统进行图像采集, 每张切片选择 3 个区域运用 400 倍采集图像。采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统测定所采集全部图像的光密度 (IOD) 和面积, 计算平均光密度值 (MD)。

1.6 统计学分析 计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 应用 SPSS 17.0 统计分析软件对数据进行分析处理, 组间采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行比较, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 对血脂水平的影响 如表 1 结果显示, 与空白对照组相比, 模型对照组血清 TC、TG、LDL-C 水平明显升高 ( $P < 0.01$ ), HDL-C 水平各组无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 给药 4 周后, 小檗碱-吴茱萸碱配伍组 (89.2、178.4 mg/kg) 血清 TC、TG 水平较模型对照组显著降低 ( $P < 0.01$ ), 89.2 mg/kg 配伍组血清 LDL-C 水平显著低于模型对照组 ( $P < 0.05$ )。

表 1 小檗碱与吴茱萸碱配伍对高胆固醇血症大鼠血脂水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Effects of berberine-evodiamine compatibility on serum lipid levels in hypercholesterolemic rats ( $\bar{x} \pm s$ )

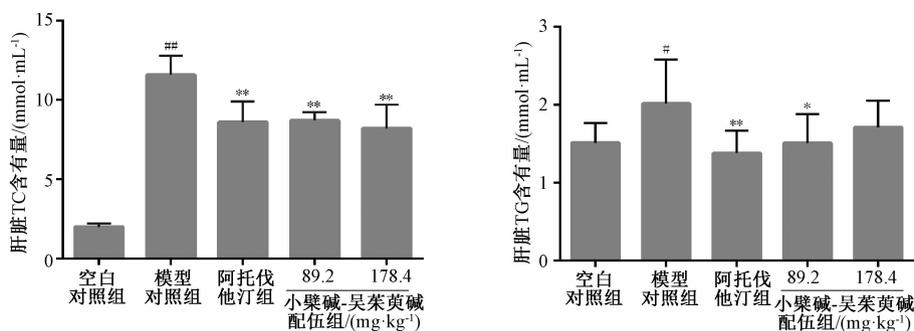
组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	动物数/ 只	TC/(mmol·L <sup>-1</sup> )	TG/(mmol·L <sup>-1</sup> )	HDL-C/(μmol·L <sup>-1</sup> )	LDL-C/(μmol·L <sup>-1</sup> )
空白对照组	—	10	1.29 ± 0.05	0.08 ± 0.01	0.35 ± 0.04	0.35 ± 0.10
模型对照组	—	10	3.02 ± 0.28 <sup>##</sup>	0.37 ± 0.12 <sup>##</sup>	0.34 ± 0.18	4.28 ± 0.61 <sup>##</sup>
阿托伐他汀组	20	10	1.64 ± 0.34 <sup>**</sup>	0.12 ± 0.02 <sup>**</sup>	0.17 ± 0.04	1.79 ± 0.90 <sup>**</sup>
小檗碱-吴茱萸碱配伍组	89.2	10	1.77 ± 0.23 <sup>**</sup>	0.10 ± 0.01 <sup>**</sup>	0.28 ± 0.11	2.35 ± 0.53 <sup>*</sup>
小檗碱-吴茱萸碱配伍组	178.4	10	2.01 ± 0.39 <sup>**</sup>	0.09 ± 0.04 <sup>**</sup>	0.40 ± 0.15	3.05 ± 0.49

注: 与空白对照组比较, <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型对照组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

2.2 对肝脏 TC、TG 的影响 造模后, 模型对照组大鼠肝脏 TC、TG 水平较空白对照组显著升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与模型对照组比较, 89.2 mg/kg 配伍组肝脏 TC、TG 水平显著降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 178.4 mg/kg 配伍组肝脏 TC 水平较模型对照组显著降低 ( $P < 0.01$ ), 其 TG 水平较模型对照组有所降低, 但差异无统计学

意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 1。

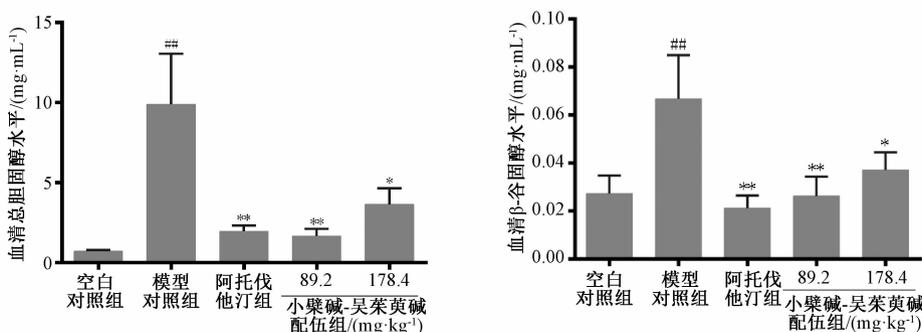
2.3 对血清总胆固醇、β-谷固醇的影响 气相色谱分析结果如图 2 所示, 模型对照组大鼠血清总胆固醇、β-谷固醇水平较空白对照组显著升高 ( $P < 0.01$ ); 给药后, 小檗碱与吴茱萸碱配伍能降低模型对照组大鼠血清总胆固醇、β-谷固醇水平 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 且 89.2 mg/kg 配伍组大鼠血清



注：与空白对照组比较，<sup>#</sup> $P < 0.05$ ，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型对照组比较，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

图1 小檗碱与吴茱萸碱配伍对高胆固醇血症大鼠肝组织 TC、TG 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 1 Effects of berberine-evodiamine compatibility on hepatic cholesterol and triglyceride contents in hypercholesterolemic rats ( $\bar{x} \pm s$ )



注：与空白对照组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型对照组比较，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

图2 小檗碱与吴茱萸碱配伍对高胆固醇血症大鼠血清总胆固醇、β-谷甾醇的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 2 Effects of berberine-evodiamine compatibility on serum cholesterol and β-sitosterol levels in hypercholesterolemic rats ( $\bar{x} \pm s$ )

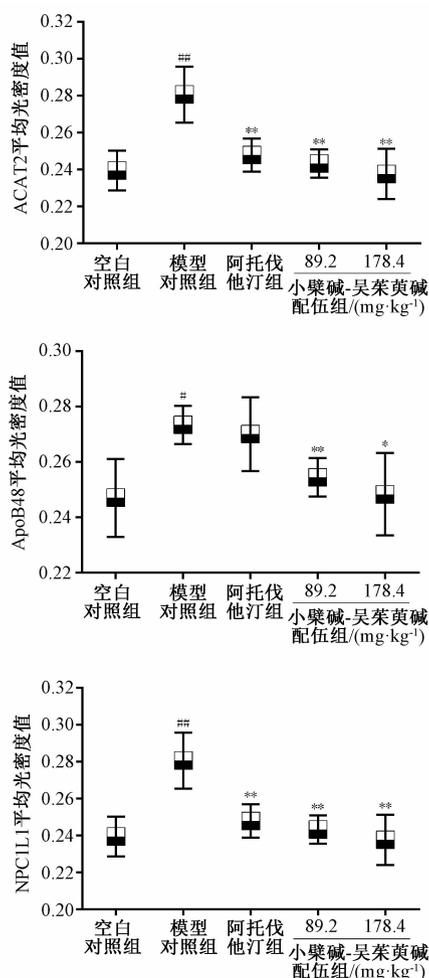
总胆固醇、β-谷甾醇水平均低于 178.4 mg/kg 配伍组。

2.4 对小肠 NPC1L1、ApoB48 和 ACAT2 蛋白表达的影响 统计结果表明，模型对照组大鼠小肠 NPC1L1、ApoB48 及 ACAT2 蛋白表达显著升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )，与空白对照组比较具有统计学意义。经药物治疗后，给药各组小肠 NPC1L1 和 ACAT2 平均光密度较模型对照组明显降低 ( $P < 0.01$ )，小檗碱与吴茱萸碱配伍 2 个剂量组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；89.2、178.4 mg/kg 小檗碱-吴茱萸碱配伍组小肠 ApoB48 平均光密度均显著低于模型对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结果见图3~6。

### 3 讨论

胆固醇是哺乳动物细胞膜的重要组成部分，对于维持细胞结构以及调节机体生命活动至关重要。而饮食胆固醇的过量摄入是导致高胆固醇血症发生的主要因素，也是诱发动脉粥样硬化的重要原

因<sup>[14]</sup>。研究表明，临床对于体内胆固醇代谢水平的监测除了采用传统血脂指标外，胆固醇吸收合成标志物更能准确反映胆固醇的代谢状况<sup>[15-16]</sup>。β-谷甾醇是一种来源于膳食的植物固醇，其与总胆固醇比值可作为胆固醇肠道吸收标志物，反映机体外源性胆固醇吸收率<sup>[14]</sup>。Miettinen 等<sup>[17]</sup>研究发现，血清中植物固醇与 TC、LDL-C 水平呈正相关。本实验研究小檗碱与吴茱萸碱配伍对高脂、高胆固醇喂养大鼠胆固醇代谢的影响，结果显示，小檗碱与吴茱萸碱配伍给药后，动物血清 TC、TG、LDL-C 水平较模型对照组显著降低，表明小檗碱与吴茱萸碱配伍对于高胆固醇血症大鼠具有显著降低胆固醇水平的作用。气相色谱分析结果显示，模型对照组血清总胆固醇、β-谷甾醇水平较空白对照组明显升高；小檗碱与吴茱萸碱配伍能显著降低模型大鼠血清总胆固醇和 β-谷甾醇水平，说明小檗碱与吴茱萸碱配伍对于高胆固醇血症大鼠胆固醇水平的调控与抑制胆固醇吸收有关。



注：与空白对照组比较，<sup>#</sup> $P < 0.05$ ，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型对照组比较，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

图3 各组大鼠小肠 ACAT2、ApoB48 和 NPC1L1 平均光密度值 ( $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 3 Average luminous density (IOD) of intestinal ACAT2, ApoB48 and NPC1L1 in all groups ( $\bar{x} \pm s$ )

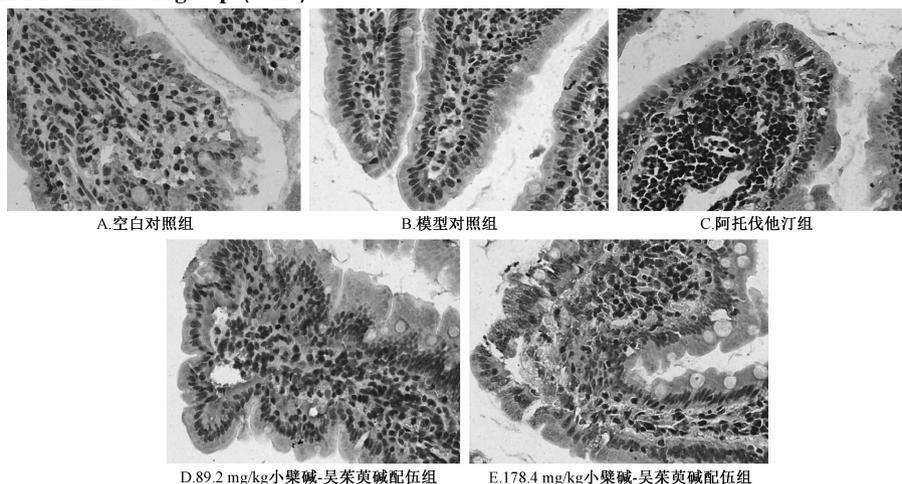


图4 小檗碱与吴茱萸碱配伍对高胆固醇血症大鼠小肠 ACAT2 蛋白表达的影响 ( $\times 400$ )

Fig. 4 Effects of berberine-evodia alkaloid compatibility on the expression of intestinal ACAT2 protein in hypercholesterolemic rats ( $\times 400$ )

小肠是胆固醇吸收的主要场所，对于内源胆固醇的代谢起关键作用。NPC1L1 是一种主要表达于小肠上皮吸收细胞中的膜蛋白，位于质膜的 NPC1L1 蛋白通过与胆固醇发生内吞，将外源胆固醇转运至内吞循环体 (endocytic recycling compartment, ERC)，从而介导胆固醇的吸收<sup>[18-19]</sup>。ACAT2 主要分布于肝脏和小肠，可将吸收进胞内的胆固醇催化形成胆固醇酯，而经合成的胆固醇酯可与磷脂、甘油三酯，以及多种载脂蛋白如 ApoB48 等结合形成乳糜微粒，参与胆固醇的代谢<sup>[20]</sup>。免疫组化结果显示，模型对照组小肠 ACAT2、ApoB48、NPC1L1 表达均明显升高，与空白对照组比较具有统计学意义；小檗碱与吴茱萸碱配伍能显著降低模型大鼠小肠 ACAT2、ApoB48、NPC1L1 的表达，表明小檗碱与吴茱萸碱配伍对于高胆固醇血症大鼠体内胆固醇代谢的调节可能是通过抑制胆固醇的吸收而实现，其具体机制可能与下调 ACAT2、ApoB48 和 NPC1L1 的表达有关。

本实验在前期研究基础上采用黄连、吴茱萸 1:1 配伍药对中小檗碱与吴茱萸碱相应比例配伍进行其对于高胆固醇血症大鼠的干预作用研究。实验结果表明，小檗碱与吴茱萸碱配伍 2 个剂量对于抑制模型大鼠胆固醇的吸收均具有显著作用，而在降低模型大鼠血清 TC 及 LDL-C 水平方面 89.2 mg/kg 配伍剂量组优于 178.4 mg/kg 配伍剂量组，为临床应用提供了科学依据。由于中药药物的作用方向及功用各具特点，虽然中药的剂量对药效具有重要影响，但剂量与药效之间的相关性亦受多种因素影响<sup>[21]</sup>，其影响机制尚需进一步研究。

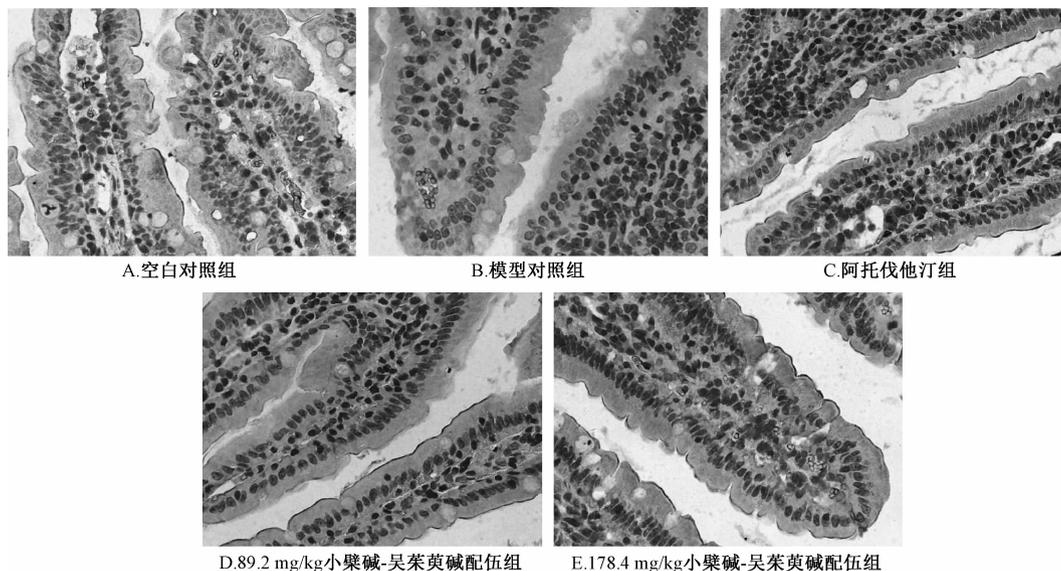


图5 小檗碱与吴茱萸碱配伍对高胆固醇血症大鼠小肠 ApoB48 蛋白表达的影响 ( × 400 )

Fig. 5 Effects of berberine-evodiamine compatibility on the expression of intestinal ApoB48 protein in hypercholesterolemic rats ( × 400 )

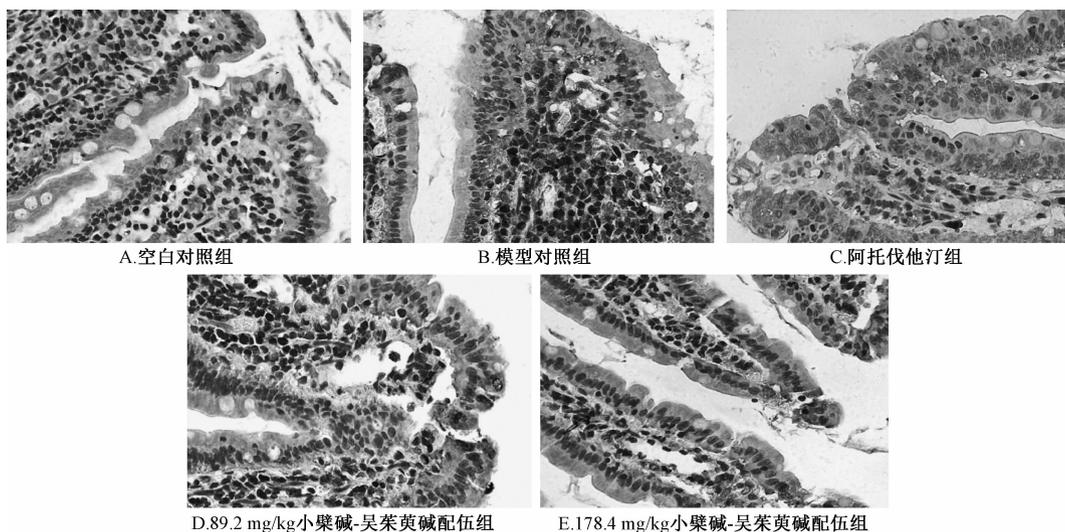


图6 小檗碱与吴茱萸碱配伍对高胆固醇血症大鼠小肠 NPC1L1 蛋白表达的影响 ( × 400 )

Fig. 6 Effects of berberine-evodiamine compatibility on the expression of intestinal NPC1L1 protein in hypercholesterolemic rats ( × 400 )

参考文献:

[ 1 ] Merkle M, Reiner Z. The burden of hyperlipidaemia and diabetes in cardiovascular diseases[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2007, 21(Suppl 2): 1-3.  
[ 2 ] Robinson J G, Wang S, Smith B J, et al. Meta-analysis of the relationship between non-high-density lipoprotein cholesterol reduction and coronary heart disease risk[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(4): 316-322.  
[ 3 ] Davis H R Jr, Zhu L J, Hoos L M, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(32): 33586-33592.

[ 4 ] Jia L, Betters J L, Yu L. Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport [J]. *Annu Rev Physiol*, 2011, 73: 239-259.  
[ 5 ] Shinkai H. Cholesteryl ester transfer-protein modulator and inhibitors and their potential for the treatment of cardiovascular diseases [J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2012, 8 ( 15 ): 323-331.  
[ 6 ] Parini P, Davis M, Lada A T, et al. ACAT2 is localized to hepatocytes and is the major cholesterol-esterifying enzyme in human liver[J]. *Circulation*, 2004, 110(14): 2017-2023.  
[ 7 ] 沈涛. 黄连吴茱萸组方对实验性高脂模型小鼠的降脂实验研究[J]. *成都中医药大学学报*, 2007, 30(1): 18-19.  
[ 8 ] 沈涛. 黄连吴茱萸配伍预防高脂饮食大鼠高脂血症形成

的实验研究[J]. 成都中医药大学学报, 2010, 33(3): 40-44.

[9] 沈涛, 贾波, 郭力, 等. 黄连吴茱萸配伍对大鼠高脂血症模型肝脏组织 ABCA1 基因表达的影响[J]. 成都中医药大学学报, 2011, 34(1): 49-51.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 285.

[11] 吴江明, 栾连军, 程翼宇. 胶束毛细管电泳法同时测定黄连-吴茱萸药对中5种生物碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(3): 325-328.

[12] Zhang Q, Wang G J, A J Y, et al. Application of GC/MS-based metabonomic profiling in studying the lipid-regulating effects of *Ginkgo biloba* extract on diet-induced hyperlipidemia in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(12): 1674-1687.

[13] Wang H, Zhang Z S, Guo Y, et al. Hawthorn fruit increases the antioxidant capacity and reduces lipid peroxidation in senescence-accelerated mice [J]. *Eur Food Res Technol*, 2011, 232(5): 743-751.

[14] Espenshade P J, Hughes A L. Regulation of sterol synthesis in eukaryotes[J]. *Annu Rev Genet*, 2007, 41: 401-427.

[15] Kourounakis A P, Katselou M G, Matralis A N, et al. Squalene synthase inhibitors: An update on the search for new anti-hyperlipidemic and antiatherosclerotic agents [J]. *Curr Med Chem*, 2011, 18(29): 4418-4439.

[16] Vanmierlo T, Rutten K, van Vark-van der Zee L C, et al. Cerebral accumulation of dietary derivable plant sterols does not interfere with memory and anxiety related behavior in Abcg5<sup>-/-</sup> mice[J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2011, 66(2): 149-156.

[17] Miettinen T A, Nissinen M, Lepäntalo M, et al. Non-cholesterol sterols in serum and endarterectomized carotid arteries after a short-term plant stanol and sterol ester challenge [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2011, 21(3): 182-188.

[18] Altmann S W, Davis H R Jr, Zhu L J, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption [J]. *Science*, 2004, 303(5661): 1201-1204.

[19] Ge L, Wang J, Qi W, et al. The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1[J]. *Cell Metab*, 2008, 7(6): 508-519.

[20] Lee R G, Willingham M C, Davis M A, et al. Differential expression of ACAT1 and ACAT2 among cells within liver, intestine, kidney, and adrenal of nonhuman primates [J]. *J Lipid Res*, 2000, 41(12): 1991-2001.

[21] 王丹, 康健. 中药剂量与药效的相关性研究[J]. 河南中医, 2013, 33(7): 1158-1159.

## 益智聪明汤对 Aβ<sub>25-35</sub> 致阿尔茨海默病小鼠 tau 蛋白磷酸化的影响

齐越<sup>1,2</sup>, 姜鸿<sup>3</sup>, 李纪彤<sup>3</sup>, 王光函<sup>1</sup>, 王亚斌<sup>2</sup>, 秦文艳<sup>1</sup>, 李昭<sup>2</sup>, 刘小虎<sup>1</sup>, 向绍杰<sup>1</sup>, 贾冬<sup>2\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学附属第二医院, 辽宁 沈阳 110034; 2. 辽宁中医药大学中医脏象理论及应用教育部重点实验室, 辽宁 沈阳 110847; 3. 辽宁中医药大学附属第三医院, 辽宁 沈阳 110032)

**摘要:** 目的 观察益智聪明汤(人参、茯苓、制首乌, 等)对 β-淀粉样蛋白 Aβ<sub>25-35</sub> 致阿尔茨海默病模型小鼠磷酸化 tau 蛋白表达的影响及其作用机制。方法 选用 SPF 级 ICR 小鼠 60 只, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 假手术组左侧海马单次注射生理盐水 3 μL, 模型组、盐酸多奈哌齐组及益智聪明汤各组分别左侧海马注射 Aβ<sub>25-35</sub> 3 μL (3 nmol/L), 除假手术组及模型组外, 其余各组分别灌胃给予盐酸多奈哌齐和益智聪明汤。给药 15 d 后, 免疫组化测定 tau 蛋白磷酸化位点的表达; Western blot 检测海马区 PI3K/AKT/GSK3β (磷脂酰肌醇-3-羟激酶/蛋白激酶 B/糖原合成酶激酶 3β) 的蛋白表达。结果 益智聪明汤可减少 tau (Thr231) 及 tau (Ser404) 磷酸化表达水平, 增加 PI3K、AKT 及 GSK3β 磷酸化表达。结论 益智聪明汤可抑制 Aβ<sub>25-35</sub> 致阿尔茨海默病小鼠 tau 蛋白磷酸化位点的表达, 其机制可能是通过 PI3K/Akt/GSK3β 信号途径。

**关键词:** 益智聪明汤; 阿尔茨海默病; tau; PI3K; AKT; GSK3β

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)10-1999-05

收稿日期: 2017-04-18

基金项目: 辽宁中医药大学中医脏象理论及应用教育部重点实验室开放基金 (zyzx1513)

作者简介: 齐越(1977—), 女, 副研究员, 博士, 从事中药防治神经系统变性疾病研究。Tel: 13514214289, E-mail: lnzyxyqy2003@163.com

\* 通信作者: 贾冬(1963—), 男, 研究员, 主任中药师, 博士生导师, 从事中药复方配伍、新药药效学和安全性评价研究。E-mail: jiadg2003@126.com