

基于 ATF3/HNF4 α /CYP7A1 通路探讨毛果鱼藤石油醚提取物对代谢综合征小鼠糖脂代谢的影响

严静¹, 翁杰¹, 张萱¹, 李雪², 孔超男¹, 刘洪存², 杨立芳^{1,3*}, 姜明国², 梁秋雁¹, 何莉婷¹

(1. 广西民族大学化学化工学院, 林产化学与工程国家民委重点实验室, 广西林产化学与工程重点实验室/协同创新中心, 广西南宁 530006; 2. 广西民族大学海洋与生物技术学院, 广西多糖材料与改性重点实验室, 广西南宁 530006; 3. 广西药品检验研究院国家药监局中药材质量监测与评价重点实验室, 广西南宁 530021)

摘要: 目的 探究毛果鱼藤石油醚提取物对代谢综合征 (MS) 小鼠糖脂代谢的影响。方法 KM 小鼠通过饲喂高脂饲料及腹腔注射链脲佐菌素构建 MS 模型, 然后随机分为模型组、盐酸二甲双胍组、洛伐他汀组、熊果酸组及毛果鱼藤石油醚提取物高、中、低剂量组, 每组 10 只, 另取 10 只饲喂正常饲料的小鼠作为正常组。灌胃给药 4 周后, 测定糖脂代谢相关指标, HE 染色及油红 O 染色观察肝组织病理变化; RT-qPCR 法检测肝组织 ATF3、PEPCK、FXR、CYP7A1、HNF4 α 、CYP8B1、SRB1 mRNA 表达; Western blot 法检测肝组织 ATF3、HNF4 α 、PEPCK、FXR、CYP7A1 蛋白表达。结果 与模型组比较, 毛果鱼藤石油醚提取物高剂量组小鼠 OGTT 的曲线下积分面积 (OGTT-AUC) 降低 ($P < 0.01$); 血清 HDL-C 水平升高 ($P < 0.01$), TG、TC、LDL-C、BUN、SCR、TBA、ATF3 水平及 AST、ALT 活性均降低 ($P < 0.01$); 肝脏损伤和脂质堆积情况得到改善; 肝组织 ATF3、HNF4 α 、PEPCK mRNA 和蛋白表达, CYP8B1 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$), FXR、CYP7A1 mRNA 和蛋白表达, SRB1 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)。结论 毛果鱼藤石油醚提取物可改善 MS 小鼠糖脂代谢, 其可能通过调控 ATF3/HNF4 α /CYP7A1 信号通路起到降糖降脂、改善肝脏损伤和肾脏损伤的作用。

关键词: 毛果鱼藤; 石油醚提取物; 代谢综合征; 糖脂代谢; 降血糖; 降血脂

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)09-2902-10

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.012

Investigation of effects of petroleum ether fraction from *Derris eriocarpa* on glucose and lipid metabolism in a mouse model of metabolic syndrome via ATF3/HNF4 α /CYP7A1 pathway

YAN Jing¹, WENG Jie¹, ZHANG Xuan¹, LI Xue², KONG Chao-nan¹, LIU Hong-cun², YANG Li-fang^{1,3*}, JIANG Ming-guo², LIANG Qiu-yan¹, HE Li-ting¹

(1. State Ethnic Affairs Commission Key Laboratory of Forest Chemistry and Engineering, Guangxi Key Laboratory of Forest Chemistry and Engineering/Guangxi Collaborative Innovation Center for Forest Chemistry and Engineering, Guangxi Minzu University, Nanning 530006, China; 2. School of Marine Sciences and Biotechnology, Guangxi Key Laboratory of Polysaccharide Materials and Modifications, Guangxi Minzu University, Nanning 530006, China; 3. National Medical Products Administration Key Laboratory for Quality Monitoring and Evaluation of Traditional Chinese Medicines, Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China)

ABSTRACT: AIM To investigate effects of petroleum ether fraction from *Derris eriocarpa* How on glucose and lipid metabolism in a mouse model of metabolic syndrome (MS). **METHODS** KM mice were fed a high-fat diet

收稿日期: 2024-10-29

基金项目: 国家自然科学基金 (32460009, 81960164); 广西药品检验研究院国家药监局中药材质量监测与评价重点实验室开放课题 (KFKT-2022-7); 广西中药质量标准重点实验室开放课题 (桂中重开 202408)

作者简介: 严静 (1998—), 女, 硕士生, 研究方向为制药与精细化工。Tel: 17856006882, E-mail: 2503511941@qq.com

* 通信作者: 杨立芳 (1969—), 女, 博士, 教授, 从事药物资源、药食同源植物和微生物次生代谢产物生物活性及有效成分的研究。Tel: 13977166549, E-mail: yanglf1990@163.com

and administered streptozotocin intraperitoneally to establish MS models. The MS mice were then randomly assigned to the model group, the metformin hydrochloride group, the lovastatin group, the ursolic acid group, and the high-, medium- and low-dose *D. eriocarpa* petroleum ether fraction groups, with 10 mice in each group. Ten additional mice maintained on a normal diet served as the normal control group. After 4 weeks of intragastric administration, glucose and lipid metabolism indicators were measured. Hepatic pathological changes were assessed using HE staining and oil red O staining. Liver tissue mRNA expressions of *ATF3*, *PEPCK*, *FXR*, *CYP7A1*, *HNF4α*, *CYP8B1* and *SRB1* were quantified by RT-qPCR. Hepatic protein expressions of *ATF3*, *HNF4α*, *PEPCK*, *FXR* and *CYP7A1* was analyzed by Western blot in MS mice. **RESULTS** Compared to the model group, the high-dose *D. eriocarpa* petroleum ether fraction group exhibited significant glucose tolerance improvement (reduced OGTT-AUC, $P < 0.01$); favorable serum lipid modulation in terms of increased HDL-C levels ($P < 0.01$) and decreased TG, TC, LDL-C ($P < 0.01$); reduced renal biomarkers (BUN, SCR) and hepatotoxic indicators of TBA, AST and ALT activities ($P < 0.01$); alleviated hepatic lipid accumulation and histopathological damage; downregulated mRNA and protein expressions of *ATF3*, *HNF4α* and *PEPCK*, as well as *CYP8B1* mRNA expression ($P < 0.01$); and upregulated mRNA and protein expressions of *FXR* and *CYP7A1*, along with *SRB1* mRNA expression ($P < 0.01$). **CONCLUSION** *D. eriocarpa* petroleum ether fraction ameliorates glucose and lipid metabolism dysregulation in MS mice by modulating the *ATF3*/*HNF4α*/*CYP7A1* signaling pathway, consequently eliciting hypoglycemic, hypolipidemic, hepatoprotective and nephroprotective effects.

KEY WORDS: *Derris eriocarpa* How; petroleum ether fraction; metabolic syndrome; glycolipid metabolism; lowering blood sugar; lowering blood lipid

代谢综合征 (metabolic syndrome, MS) 是多种代谢紊乱导致的一种慢性病, 主要表现为高血糖、血脂异常、糖脂代谢异常等, 严重影响机体健康^[1-2]。中医学认为长期的糖脂代谢紊乱会导致肾功能受损^[3-4], 肝脏作为主要的代谢器官, 在糖脂代谢紊乱中具有枢纽作用^[5]。据统计, 全球 MS 发病率高达 12.5% ~ 31.4%^[6-7], 其发病机制复杂, 治疗难度大^[8], 目前治疗药物多为单靶点干预, 难以同时调节多个病理环节, 限制了疗效^[9-10]。研究表明, 天然植物提取物对 MS 的防治具有较好效果^[11-13]。因此, 从天然植物中发现降糖降脂效果好且毒副作用低的药物有重大意义。

转录激活因子 3 (activating transcription factor 3, *ATF3*) 是一种应激诱导的适应性反应基因^[14-15]。Allen-Jennings 等^[16]首次报道了 *ATF3* 在调节肝脏糖异生中的作用, 同时 *ATF3* 可以调节肝脏脂代谢^[17]。因此, 寻找靶向 *ATF3* 的药物对 MS 的治疗具有重要意义。

壮药毛果鱼藤 *Derris eriocarpa* How 是豆科鱼藤属灌木, 民间常将其用于治疗肾炎等^[18]。毛果鱼藤还具有抗肿瘤^[19-20]、抗氧化^[21]等作用。课题组前期研究发现, 毛果鱼藤石油醚提取物具有一定的抗糖尿病作用^[22], 但其对 MS 糖脂代谢紊乱的改善作用未见相关报道。因此, 本研究拟探究毛果鱼

藤石油醚提取物改善糖脂代谢紊乱的药理活性及其分子机制, 以期为毛果鱼藤治疗 MS 提供一定的依据。

1 材料

1.1 动物与饲料 SPF 级雄性 KM 小鼠 80 只, 体质量 18 ~ 22 g, 购自广西医科大学动物实验中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (桂) 2020-0003], 饲养于广西壮族自治区中医药研究院 SPF 级动物房中 [实验动物使用许可证号 SYXK (桂) 2022-0001], 环境相对湿度 (60 ± 5)%、温度 (25 ± 1)℃, 昼夜光照 12 h/12 h 循环。所有操作均严格按照《实验动物管理条例》进行, 并经广西民族大学伦理委员会审批通过 (伦理审查号 202410608022)。小鼠高脂饲料为自制, 由 1% 胆固醇、10% 蛋黄、10% 猪油、0.2% 猪胆盐、78.8% 基础饲料组成, 其中胆固醇、猪胆盐 (批号 C12017554、C14493799) 购自上海麦克林生化科技股份有限公司。

1.2 药物与试剂 新鲜的毛果鱼藤采自广西靖西县, 由广西中医药大学田慧教授鉴定为豆科鱼藤属植物毛果鱼藤 *Derris eriocarpa* How, 样本保存于广西民族大学化学化工学院。熊果酸、链脲佐菌素、二甲双胍 (批号 B2216048、J517BA0007、D16GS171362, 北京索莱宝科技有限公司); 洛伐

他汀(批号 Y18J11C116004, 上海源叶生物科技有限公司); 甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、尿氮素(BUN)、血清肌酐(SCR)、总胆汁酸(TBA)试剂盒(货号 A110-1-1、A111-1-1、A112-1-1、A113-1-1、C010-2-1、C009-2-1、C013-2-1、C011-2-1、E003-2-1, 南京建成生物工程研究所); 小鼠 ATF3 ELISA 试剂盒(批号 M14781073, 武汉菲恩生物科技有限公司); SYBR Green qPCR Master(货号 G891, 上海艾比玛特医药科技有限公司); Star Script II RT Kit、TRI Gene Reagent(批号 CG1231、CHG071, 广州市康润生物科技有限公司); β -actin 抗体(批号 AC230205001, 武汉赛维尔生物科技有限公司); 法尼醇 X 受体(farnesoid x receptor, FXR) 多克隆抗体、胆固醇 7 α -羟化酶(cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1) 多克隆抗体、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) 多克隆抗体(批号 00121844、00132582、00106521, 武汉三鹰生物技术有限公司); ATF3 Rabbit pAb、肝细胞核因子 4 α (hepatocyte nuclear factor 4 alpha, HNF4 α) Rabbit pAb(批号 0049321101、9002085002, 武汉爱博泰克生物科技有限公司)。

1.3 仪器 Nanodrop One 微量核酸蛋白测定仪、Step One Plus 荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); CKX41 倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司); 7100 全自动生化试剂仪(日本 HITACHI 公司); Epoch 全波长酶标仪(美国 BioTek 公司); 化学发光成像系统(北京六一生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 毛果鱼藤石油醚提取物制备 将完全风干的毛果鱼藤切成片, 粉碎, 过 60 目筛, 加入 95% 乙醇浸泡提取 12 h(乙醇与毛果鱼藤粉末的料液比为 10:1), 加热回流提取 2 h, 重复 3 次后合并滤液, 浓缩, 得到毛果鱼藤乙醇浸膏, 然后加入石油醚萃取, 浓缩萃取液, 得到的浸膏即为毛果鱼藤石油醚提取物。

2.2 MS 模型建立 小鼠适应性喂养 7 d 后随机分为正常组(10 只)和造模组(70 只), 正常组小鼠饲喂正常饲料, 造模组小鼠饲喂高脂饲料, 期间自由饮水, 5 周后禁食不禁水 12 h, 眼眶取血, 测定血脂四项(TG、TC、HDL-C、LDL-C)水平,

若 TG、TC、LDL-C 水平显著升高, HDL-C 水平显著降低, 则表明高脂模型建立成功。高脂小鼠禁食不禁水 16 h, 连续 2 d 腹腔注射 STZ(每天 90 mg/kg), 72 h 后测定其 FBG 水平, 若 $FBG \geq 11.1$ mmol/L, 则表明高糖模型建立成功。MS 模型成功评判标准参考文献[23-24]报道, 即模型组体重质量超过正常组平均值的 1.4 倍, 且至少满足下列条件中的 2 项: (1) 模型组 FBG 高于正常组平均值的 1.4 倍; (2) 模型组 TG 水平高于正常组平均值的 1.4 倍; (3) 模型组血压高于正常组平均值的 1.4 倍; (4) 模型组 HDL-C 水平平均值低于正常组平均值的 1.4 倍。

2.3 分组及给药 将造模成功的小鼠随机分为模型组、二甲双胍组(200 mg/kg)、洛伐他汀组(10 mg/kg)、熊果酸组(200 mg/kg)和毛果鱼藤石油醚提取物高、中、低剂量组(800、400、200 mg/kg), 每组 10 只, 灌胃给药, 正常和模型组给予等量双蒸水, 灌胃体积均为 10 mL/kg。

2.4 口服糖耐量(OGTT)测定 连续给药 28 d 后, 小鼠禁食不禁水 16 h, 进行口服糖耐量(OGTT)实验, 测定 0 min 时的 FBG 后立即灌胃给予葡萄糖溶液(2 g/kg), 随即测定 30、60、120 min 时的 FBG, 并计算 OGTT 的曲线下积分面积(OGTT-AUC)^[25]。

2.5 标本采集 小鼠禁食不禁水后, 眼眶后静脉丛取血, 随即脱颈处死, 立即解剖, 取部分肝脏组织于 4% 多聚甲醛固定液中, 用于病理切片检测, 其余组织立即放入 -80 °C 冰箱保存备用。小鼠血液离心后取上层血清, 用于相关指标检测。

2.6 血清生化指标检测 取小鼠血清, 按照试剂盒说明书测定其 ATF3、TBA、TG、TC、HDL-C、LDL-C、BUN、SCR 水平及 AST、ALT 活性。

2.7 肝组织病理学观察

2.7.1 油红 O 染色 肝组织固定后脱水处理, 吸干表面水分后用 OCT 包埋并进行冰冻切片, 切片厚度 8~10 μ m, 将组织切片贴于干净的载玻片上并洗去包埋剂, 60% 异丙醇溶液润洗 2 min 后使用油红 O 染液进行染色处理, 润洗后封片并拍照观察。

2.7.2 HE 染色 将肝组织进行固定、石蜡包埋、切片处理, 切片脱蜡至水后使用高清恒染预处理液处理 1 min, 苏木素染液染色 3~5 min, 润洗后使用分化液分化、返蓝液返蓝, 冲洗后使用伊红染液染色 15 s 并脱水, 封片后观察并采集图像。

2.8 RT-qPCR 法检测肝组织 *ATF3*、*PEPCK*、*FXR*、*CYP7A1*、*HNF4 α* 、*CYP8B1*、*SRB1* mRNA 表达 取 50 mg 肝脏组织加入 1 mL TRIzol 试剂，低温研磨仪充分研磨，4 ℃、13 000 r/min 离心 15 min，取上清液加入 200 μ L 氯仿，剧烈摇晃后离心，取上清液加入 500 μ L 异丙醇，再次离心，弃去上清，向沉淀中加入 75% 乙醇，离心后得到沉淀，使用三蒸水溶解沉淀，得到总 RNA。测定

RNA 浓度及纯度后，按照逆转录试剂盒说明书操作将其逆转录为 cDNA，测定 cDNA 浓度。将各组 cDNA 定量至相同浓度，随后根据 Blas Taq 2X qPCR Master Mix 试剂盒说明书进行 RT-qPCR 扩增反应，检测 MS 小鼠肝组织中相关基因的 mRNA 表达量。引物由生工生物工程（上海）股份有限公司合成，序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

基因	正向序列	反向序列
<i>GAPDH</i>	5'-GCCTTCGGTGTTCCTA-3'	5'-AGACAACCTGGTCCTCA-3'
<i>ATF3</i>	5'-GAGGATTTTGCTAACCTGACACC-3'	5'-TTGACGGTAACTGACTCCAGC-3'
<i>PEPCK</i>	5'-AGCATTC AACGCCAGGTTC-3'	5'-CGAGTCTGTCACTTCAATACCAA-3'
<i>FXR</i>	5'-GGCAGAATCTGGATTTGGAATCG-3'	5'-GCCAGGTTGGAATAGTAAGACG-3'
<i>CYP7A1</i>	5'-GGGATGCTGTGCTACTGAGC-3'	5'-GGTATGGAATCAACCCGTTGTC-3'
<i>HNF4α</i>	5'-TGGATATGGCCGACTACAGC-3'	5'-CAGATGGGACGTGTCAATTG-3'
<i>CYP8B1</i>	5'-CTAGGCCTAAAGTTTCGAGT-3'	5'-CTAGCCGAATAAGCTCAGGAAG-3'
<i>SRB1</i>	5'-TGTCTCCGTCTCCTTCAGGTC-3'	5'-GGGTCTATGCGGACATTCTTG-3'

2.9 Western blot 法检测肝组织 *ATF3*、*HNF4 α* 、*PEPCK*、*FXR*、*CYP7A1* 蛋白表达 称取 50 mg 肝组织，加入 1 mL RIPA 裂解液，研磨后 12 000 r/min 离心 10 min，取上清液即为所提的蛋白，采用 BCA 法测定蛋白浓度，并统一定量至 5 mg/mL。经制胶、上样、电泳、转膜后，进行封闭、孵育一抗、孵育二抗处理，随后显影、拍照、观察，最后使用 Image J 软件对条带灰度值进行分析。

3.2 毛果鱼藤石油醚提取物对 MS 小鼠血脂四项水平的影响 如图 1 所示，与正常组比较，模型组小鼠血清 HDL-C 水平降低 ($P < 0.01$)，LDL-C、TC 及 TG 水平升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组、洛伐他汀组、熊果酸组和毛果鱼藤石油醚提取物高、中剂量组小鼠血清 HDL-C 水平升高 ($P < 0.01$)，LDL-C、TC 及 TG 水平降低 ($P < 0.01$)，毛果鱼藤石油醚提取物低剂量组 LDL-C 及 TC 水平降低 ($P < 0.01$)。

2.10 统计学分析 通过 SPSS 27.0.1 软件进行处理，实验数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3.3 毛果鱼藤石油醚提取物对 MS 小鼠 OGTT 的影响 如表 2 所示，各组小鼠在灌胃给予 2 g/kg 葡萄糖溶液后，血糖在 30 min 时达到峰值，在 2 h 内逐渐恢复平稳状态。通过计算 OGTT-AUC 发现，毛果鱼藤石油醚提取物各剂量组均降低了 MS 小鼠 OGTT-AUC 水平 ($P < 0.01$)，且高剂量组的效果与二甲双胍组接近，说明毛果鱼藤石油醚提取物可以提高 MS 小鼠葡萄糖耐受能力。

3 结果

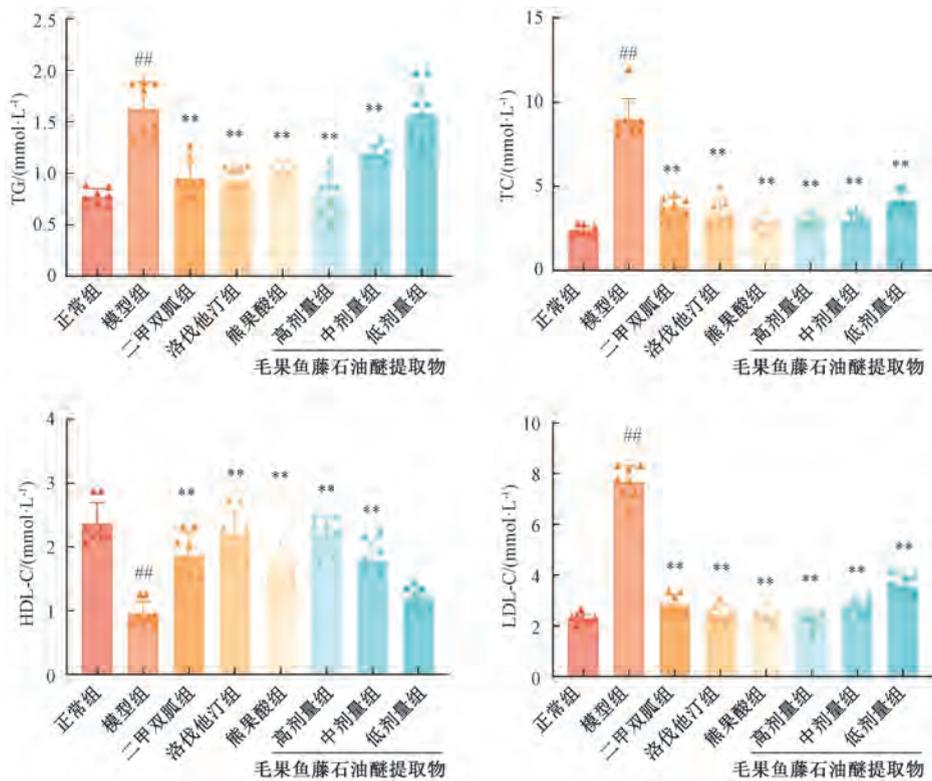
3.1 MS 模型评价 灌胃给药前，模型组小鼠体质量高于正常组的 1.71 倍，FBG 高于正常组的 2.95 倍，HDL-C 水平低于正常组平均值的 1.61 倍，TG 水平高于正常组的 1.46 倍，表明 MS 模型建立成功。

表 2 各组小鼠口服糖耐量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Tab. 2 Comparison of mouse oral glucose tolerance in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	OGTT/(mmol·L ⁻¹)				OGTT-AUC
	0 min	30 min	60 min	120 min	
正常组	6.31 \pm 0.71	8.91 \pm 1.86	6.16 \pm 0.97	5.89 \pm 0.63	13.60 \pm 1.54
模型组	22.46 \pm 7.48 ^{##}	30.82 \pm 2.14 ^{##}	27.14 \pm 3.79 ^{##}	23.30 \pm 3.62 ^{##}	53.50 \pm 5.51 ^{##}
二甲双胍组	9.33 \pm 4.23 ^{**}	23.61 \pm 2.56 ^{**}	20.10 \pm 3.30 ^{**}	14.14 \pm 4.15 ^{**}	35.87 \pm 3.57 ^{**}
洛伐他汀组	11.66 \pm 4.05 ^{**}	25.72 \pm 7.71 [*]	21.21 \pm 6.40 ^{**}	16.71 \pm 3.57 ^{**}	40.75 \pm 4.69 ^{**}
熊果酸组	10.46 \pm 4.77 ^{**}	24.94 \pm 5.86 ^{**}	20.71 \pm 4.32 ^{**}	16.61 \pm 3.59 ^{**}	39.07 \pm 7.43 ^{**}
毛果鱼藤石油醚提取物高剂量组	9.89 \pm 4.24 ^{**}	24.00 \pm 3.47 ^{**}	19.88 \pm 2.73 ^{**}	13.49 \pm 3.45 ^{**}	35.46 \pm 4.65 ^{**}
毛果鱼藤石油醚提取物中剂量组	13.05 \pm 6.02 ^{**}	26.59 \pm 4.77 [*]	21.91 \pm 3.75 ^{**}	16.83 \pm 5.06 ^{**}	41.08 \pm 5.64 ^{**}
毛果鱼藤石油醚提取物低剂量组	15.64 \pm 6.46 ^{**}	28.62 \pm 4.53	23.00 \pm 4.25 [*]	19.88 \pm 3.59 [*]	45.10 \pm 5.01 ^{**}

注：与正常组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。



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

图1 各组小鼠血清TG、TC、HDL-C、LDL-C水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 1 Comparison of mouse serum TG, TC, HDL-C and LDL-C levels in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

3.4 毛果鱼藤石油醚提取物对MS小鼠血清AST、ALT活性和BUN、SCR水平的影响 如图2所示，与正常组比较，模型组小鼠血清AST、ALT活性和BUN、SCR水平均升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组、洛伐他汀组、熊果酸组和毛果鱼藤石油醚提取物高剂量组小鼠血清AST、ALT活性和BUN水平均降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)，毛果鱼藤石油醚提取物中剂量组小鼠血清AST、ALT活性和BUN水平降低 ($P < 0.01$)，毛果鱼藤石油醚提取物低剂量组小鼠血清AST、ALT活性降低 ($P < 0.01$)。结果表明，毛果鱼藤石油醚提取物可以明显改善MS小鼠的肝脏损伤和肾脏损伤。

3.5 毛果鱼藤石油醚提取物对MS小鼠肝脏外观及组织病理学的影响

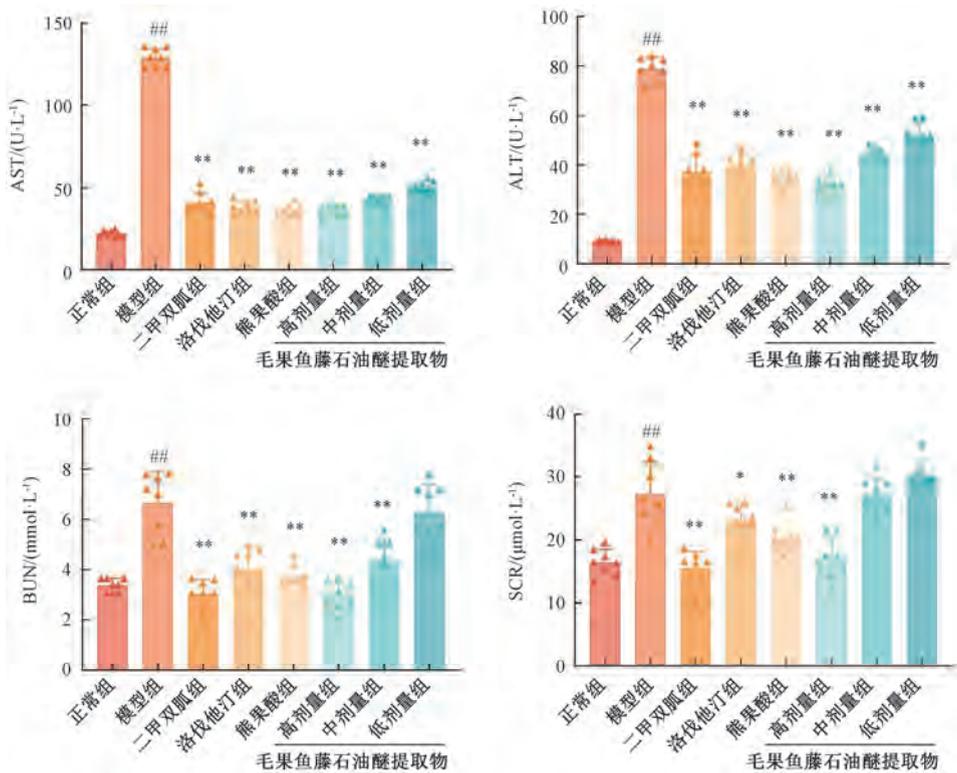
3.5.1 肝脏外观观察 如图3所示，模型组小鼠肝脏偏大，颜色发白，表面有明显的白色脂肪颗粒；毛果鱼藤石油醚提取物各剂量组小鼠肝脏的脂肪化症状有所改善，其中高、中剂量组效果与二甲双胍组、洛伐他汀组、熊果酸组状态接近，且有恢复成正常状态的趋势。

3.5.2 HE染色观察 如图4所示，正常组小鼠肝细胞排列有序、形态正常、细胞核大而圆，位于细

胞中央；模型组小鼠肝细胞形变严重，边界不清晰，肝组织出现大量大小不等的脂肪空泡，细胞排列紊乱；毛果鱼藤石油醚提取物高剂量组小鼠肝组织脂肪空泡和细胞排列紊乱程度有所缓解和恢复且细胞边界清晰，其状态与正常组、二甲双胍组、洛伐他汀组、熊果酸组接近，中剂量组也有一定的改善效果。

3.5.3 油红O染色观察 如图5所示，正常组小鼠肝组织结构未见异常，细胞核圆且居中，呈深蓝色，胞浆为淡蓝色，未出现大小不等的红色脂滴；与正常组比较，模型组小鼠肝组织结构被破坏，视野下遍布大小不等的红色脂滴，胞浆颜色均呈现橘红色，肝细胞排列不整齐；二甲双胍组、洛伐他汀组及毛果鱼藤石油醚提取物高剂量组小鼠肝脏的橘红色脂肪堆积情况得到明显改善，且效果显著，与正常组接近；熊果酸组及毛果鱼藤石油醚提取物中剂量组也有一定效果，橘红色脂滴也明显减少。

3.6 毛果鱼藤石油醚提取物对MS小鼠血清TBA、ATF3水平的影响 如图6~7所示，与正常组比较，模型组小鼠血清TBA、ATF3水平均升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，二甲双胍组、洛伐他汀组、熊果酸组和毛果鱼藤石油醚提取物高、中剂量



注：与正常组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图2 各组小鼠血清AST、ALT活性和BUN、SCR水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 2 Comparison of mouse serum AST and ALT activities, and BUN and SCR levels in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

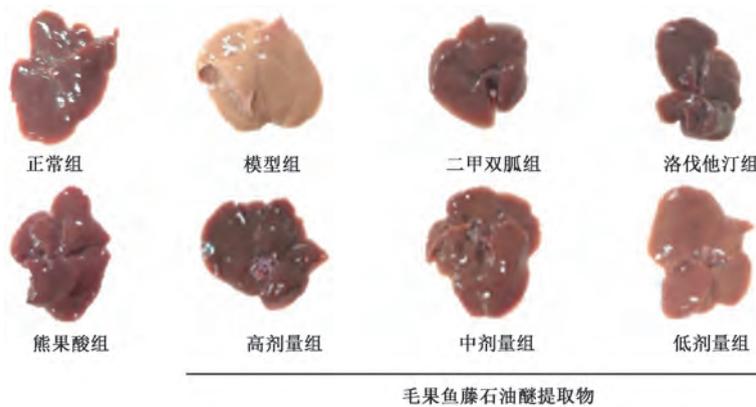


图3 各组小鼠肝脏外观

Fig. 3 Liver appearance of mice in each group

组小鼠血清TBA、ATF3水平均降低 ($P < 0.01$)，毛果鱼藤石油醚提取物低剂量组小鼠血清TBA水平降低 ($P < 0.01$)。

3.7 毛果鱼藤石油醚提取物对MS小鼠肝组织ATF3、PEPCK、FXR、CYP7A1、HNF4α、CYP8B1、SRB1 mRNA表达的影响 如图8所示，与正常组比较，模型组小鼠肝组织ATF3、PEPCK、HNF4α、CYP8B1 mRNA表达升高 ($P < 0.01$)，FXR、CYP7A1、SRB1 mRNA表达降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，熊果酸组和毛果鱼藤石油醚提取物高剂

量组小鼠肝组织ATF3、PEPCK、HNF4α、CYP8B1 mRNA表达降低 ($P < 0.01$)，FXR、CYP7A1、SRB1 mRNA表达升高 ($P < 0.01$)；其他给药组均可不同程度降低ATF3、PEPCK、HNF4α、CYP8B1 mRNA表达 ($P < 0.05, P < 0.01$)，升高FXR、CYP7A1、SRB1 mRNA表达 ($P < 0.01$)。

3.8 毛果鱼藤石油醚提取物对MS小鼠肝组织ATF3、PEPCK、FXR、CYP7A1、HNF4α蛋白表达的影响 如图9所示，与正常组比较，模型组小鼠肝组织ATF3、PEPCK、HNF4α蛋白表达升高

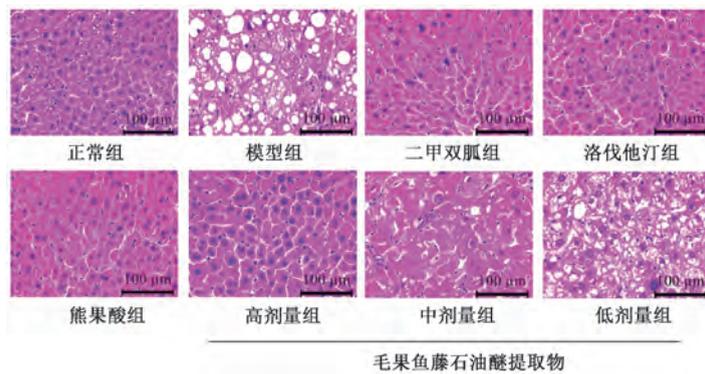


图4 各组小鼠肝组织 HE 染色 (×400)

Fig. 4 HE staining of mouse liver tissue in each group (×400)

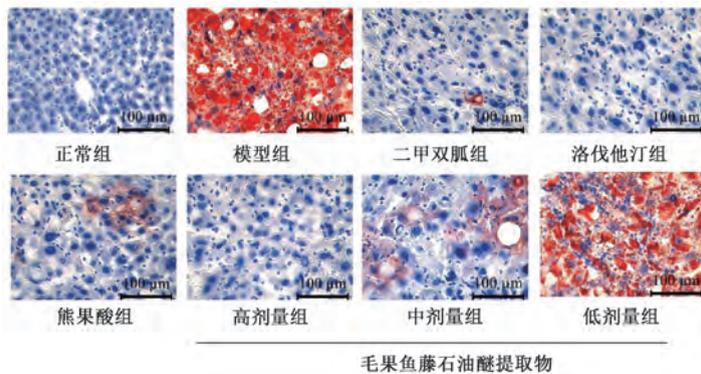
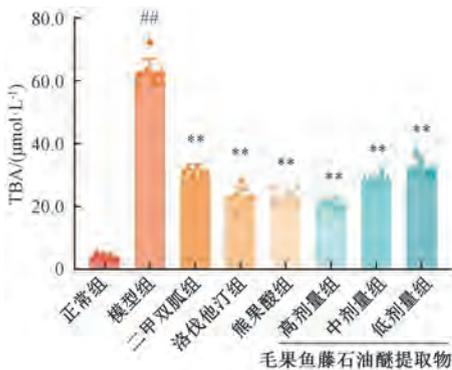


图5 各组小鼠肝组织油红 O 染色 (×400)

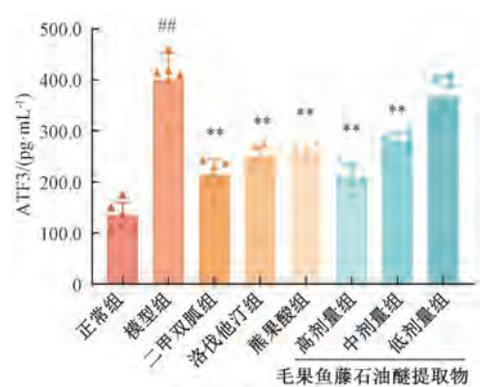
Fig. 5 Oil red O staining of mouse liver tissue in each group (×400)



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

图6 各组小鼠血清 TBA 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 6 Comparison of mouse serum TBA levels in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)



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

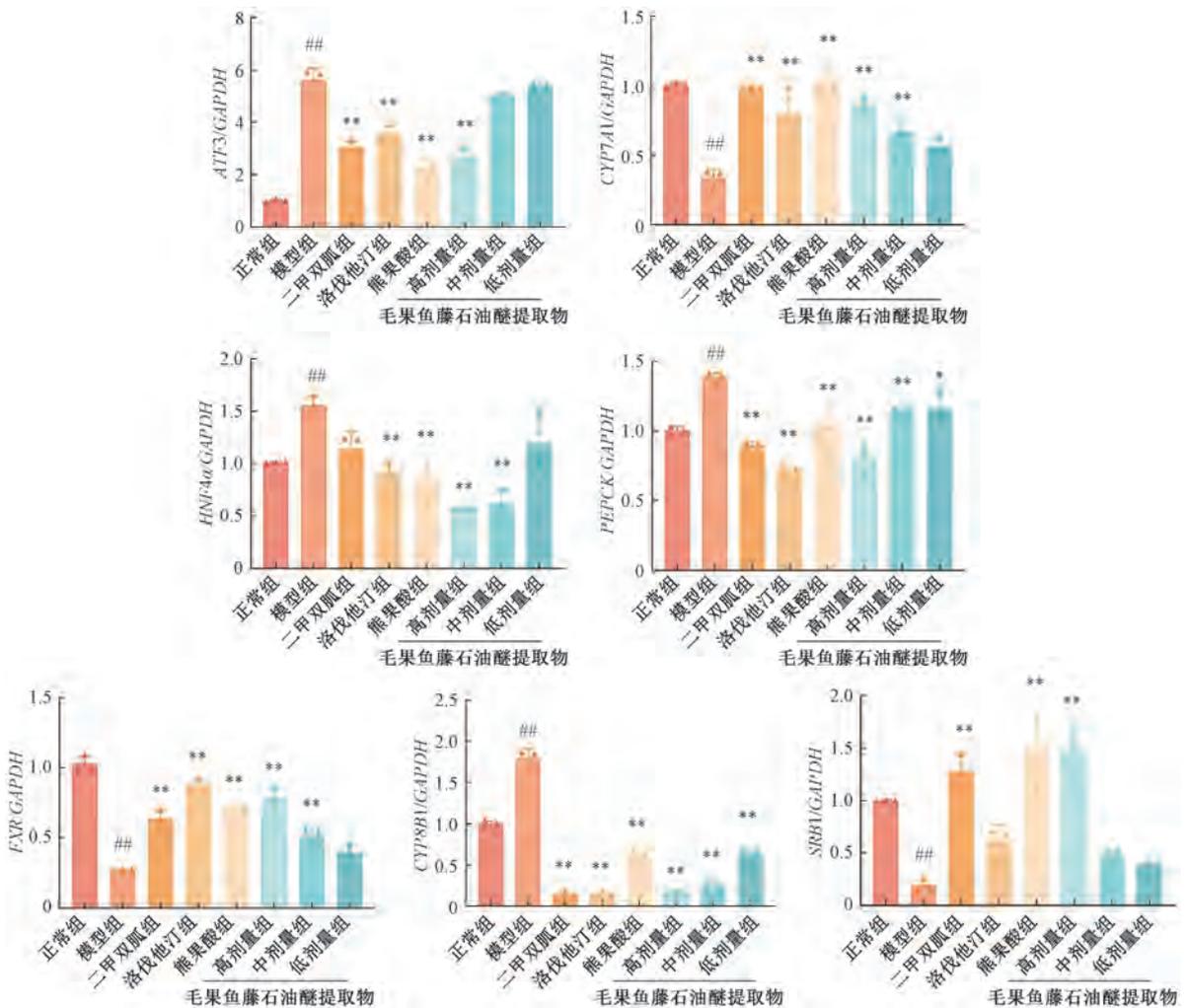
图7 各组小鼠血清 ATF3 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 7 Comparison of mouse serum ATF3 levels in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

($P < 0.01$), FXR、CYP7A1 蛋白表达降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 熊果酸组和毛果鱼藤石油醚提取物高剂量组小鼠肝组织 ATF3、PEPCK、HNF4 α 蛋白表达降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), FXR、CYP7A1 蛋白表达升高 ($P < 0.01$); 其他给药组 ATF3、PEPCK、HNF4 α 蛋白表达均降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), FXR、CYP7A1 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)。

4 讨论

构建 MS 模型的方法较多, 李缘缘等^[26]通过喂食高糖高盐高脂饲料的方法构建 MS 模型, 观察到模型组小鼠体质量增大, TG、FBG 水平升高, HDL-C 水平降低; 另有研究发现, 通过高脂饮食联合腹腔注射 STZ 构建 MS 模型, 模型组小鼠出现肝脏质量、TG、TC、FBG 水平的增加^[27]。本研究



注：与正常组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图8 各组小鼠肝组织 *ATF3*、*PEPCK*、*FXR*、*CYP7A1*、*HNF4α*、*CYP8B1*、*SRB1* mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

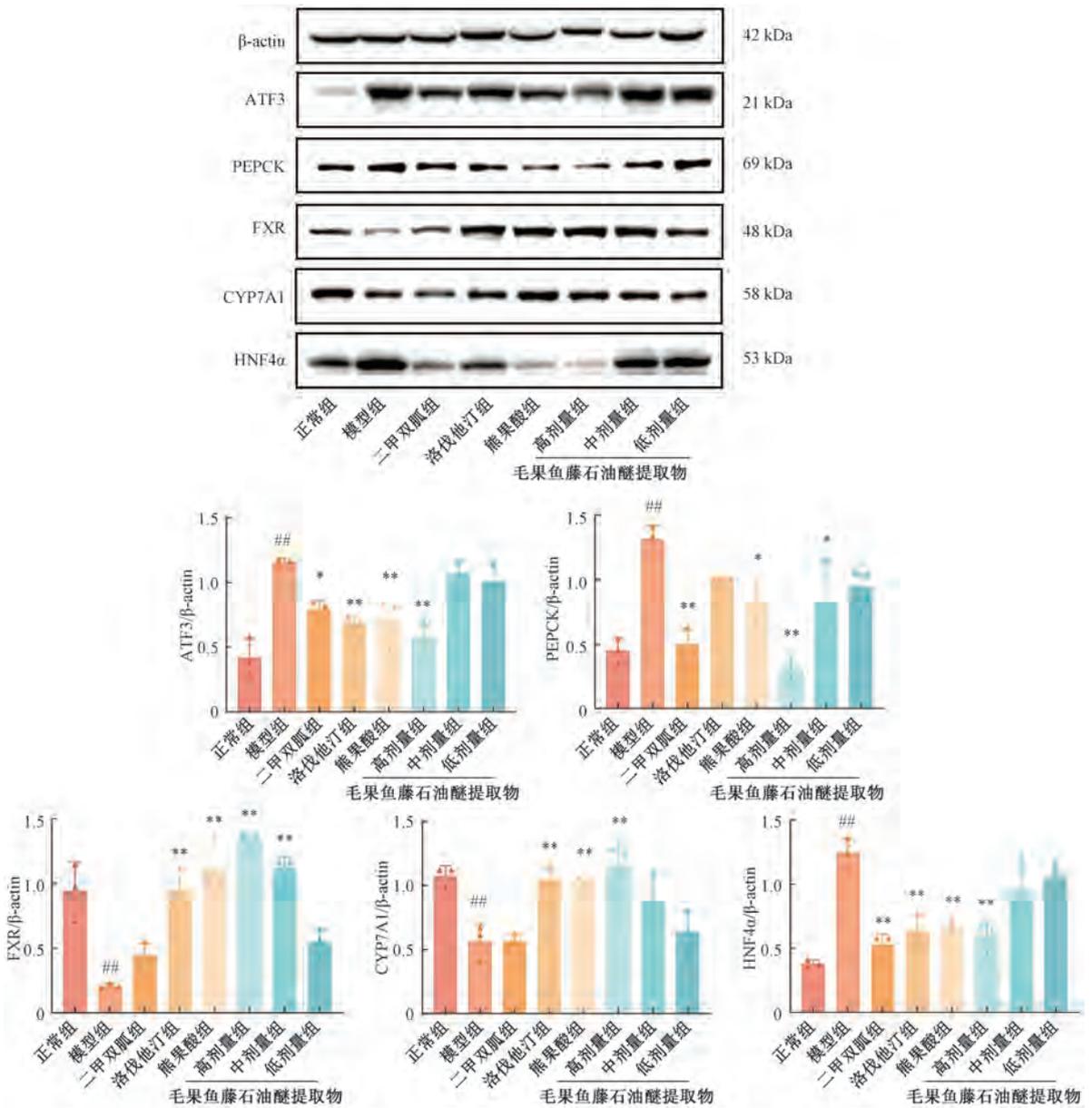
Fig. 8 Comparison of mouse hepatic mRNA expressions of *ATF3*, *PEPCK*, *FXR*, *CYP7A1*, *HNF4α*, *CYP8B1* and *SRB1* in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

采用高脂饮食联合 STZ 诱导的方法构建 MS 小鼠模型，发现模型组小鼠体质量、FBG、TG、TC、LDL-C 水平增加，HDL-C 水平降低，表明 MS 小鼠模型成功建立。

课题组前期研究发现，毛果鱼藤提取物可以改善 2 型糖尿病 (T2DM) 小鼠糖脂代谢紊乱，降低 T2DM 小鼠血清 FBG、MDA、TG 水平，提高 GSH-Px 活性及胰岛素、HDL-C 水平，其机制可能是通过抑制 TLR-4/NF-κB/Caspase-3 信号通路，缓解 T2DM 所致的一系列并发症^[22,28]。基于此，本研究通过构建 MS 小鼠模型，给予毛果鱼藤石油醚提取物进行干预，发现小鼠 TG、TC、LDL-C 和 OGGT-AUC 水平降低，HDL-C 水平提高，表明毛果鱼藤石油醚提取物可以改善 MS 小鼠的血脂异常并提高葡萄糖耐受能力。肝脏和肾脏作为糖脂代谢的两大

重要器官，当糖脂代谢紊乱发生时，肝脏和肾脏也会受到损伤。本研究结果显示，毛果鱼藤石油醚提取物可降低 MS 小鼠 AST、ALT 活性和 BUN、SCR 水平，肝组织病理切片结果也显示，MS 小鼠的脂质堆积减少，表明毛果鱼藤石油醚提取物可以改善 MS 小鼠的肝脏损伤和肾脏损伤。

有研究显示，ATF3 与 p53 相互作用诱导 SRB1 活性，调节了 HDL-C 代谢^[29]，并通过与 HNF4α 相互作用调节 CYP8B1、CYP7A1 和 FXR 水平，从而影响胆汁酸代谢，改善血脂异常^[30]。另外，ATF3 通过与 HNF4α 相互作用调节肝脏 PEPCK 水平来调节葡萄糖耐量和糖原生成，从而改善脂质和葡萄糖代谢^[16]。本研究结果显示，MS 小鼠血清 TBA、ATF3 水平降低，肝组织 *ATF3*、*HNF4α*、*PEPCK* mRNA 及蛋白表达降低，*FXR*、*CYP7A1*



注：与正常组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图9 各组小鼠肝组织 ATF3、PEPCK、FXR、CYP7A1、HNF4α 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 9 Comparison of mouse hepatic protein expressions of ATF3, PEPCK, FXR, CYP7A1 and HNF4α in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

mRNA 和蛋白表达升高，表明毛果鱼藤石油醚提取物改善 MS 小鼠糖脂代谢的作用可能是通过影响胆汁酸代谢，调节 ATF3/HNF4α/CYP7A1 信号通路来达到的。

综上所述，毛果鱼藤石油醚提取物可能通过调控 MS 小鼠 ATF3/HNF4α/CYP7A1 信号通路来达到降血糖、降血脂、保护肝脏组织、防止肾脏损伤的作用，表明毛果鱼藤石油醚提取物可能是一种有前途的改善 MS 患者糖脂代谢紊乱的防治药物。

参考文献：

[1] Yamakawa M, Wada K, Koda S, *et al.* High intake of free sugars, fructose, and sucrose is associated with weight gain in Japanese men[J]. *J Nutr*, 2020, 150(2): 322-330.
 [2] Silva Figueiredo P, Inada A C, Ribeiro Fernandes M, *et al.* An overview of novel dietary supplements and food ingredients in patients with metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 877.
 [3] 曾 颜, 田珈瑜, 詹权操, 等. 基于网络药理学研究 6-姜辣素改善 L6 成肌细胞糖脂代谢紊乱的作用机制[J]. *天然产物研究与开发*, 2022, 34(6): 1057-1066.

- [4] Ying Q, Wu G. Molecular mechanisms involved in podocyte EMT and concomitant diabetic kidney diseases; an update[J]. *Ren Fail*, 2017, 39(1): 474-483.
- [5] 陈竞苗, 秦虹, 郑温雅. 甘草黄酮调节糖脂代谢作用的研究进展[J]. *中草药*, 2024, 55(23): 8301-8310.
- [6] Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17): 6275.
- [7] Noubiap J J, Nansseu J R, Lontchi-Yimagou E, et al. Geographic distribution of metabolic syndrome and its components in the general adult population; a meta-analysis of global data from 28 million individuals[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 188: 109924.
- [8] Singh R, Cuervo A M. Autophagy in the cellular energetic balance[J]. *Cell Metab*, 2011, 13(5): 495-504.
- [9] 罗思聪, 蔡海荣, 蔡鑫桂, 等. 疏肝温胆汤对代谢综合征大鼠TLR4/IKK β /NF- κ B通路的影响[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(12): 2848-2851.
- [10] 王凤霞, 刘杰, 钱琪, 等. 基于代谢组学和网络药理学的中药治疗原发性痛经作用机制研究进展[J]. *中草药*, 2024, 55(24): 8613-8621.
- [11] Kao T W, Huang C C. Recent progress in metabolic syndrome research and therapeutics[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6862.
- [12] Jing X X, Zhou J X, Zhang N H, et al. A review of the effects of puerarin on glucose and lipid metabolism in metabolic syndrome: mechanisms and opportunities[J]. *Foods*, 2022, 11(23): 3941.
- [13] Yoon S J, Kim S K, Lee N Y, et al. Effect of Korean red ginseng on metabolic syndrome[J]. *J Ginseng Res*, 2021, 45(3): 380-389.
- [14] 辜群利, 李晖, 邓秀秀, 等. 转录激活因子3与慢性肝脏疾病相关性的研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2021, 37(9): 2236-2240.
- [15] Hai T, Wolford C C, Chang Y S. ATF3, a hub of the cellular adaptive response network, in the pathogenesis of diseases: Is modulation of inflammation a unifying component? [J]. *Gene Expr*, 2010, 15(1): 1-11.
- [16] Allen-Jennings A E, Hartman M G, Kociba G J, et al. The roles of ATF3 in glucose homeostasis. A transgenic mouse model with liver dysfunction and defects in endocrine pancreas[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(31): 29507-29514.
- [17] Xu Y, Hu S, Jadhav K, et al. Hepatocytic activating transcription factor 3 protects against steatohepatitis via hepatocyte nuclear factor 4 α [J]. *Diabetes*, 2021, 70(11): 2506-2517.
- [18] 江苏新医学院. 中药大辞典(下册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 2698.
- [19] Pacifico S, Scognamiglio M, D'Abrosca B, et al. Spectroscopic characterization and antiproliferative activity on HepG2 human hepatoblastoma cells of flavonoid C-glycosides from *Petrorhagia velutina* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(12): 1973-1978.
- [20] Dias T A, Duarte C L, Lima C F et al. Superior anticancer activity of halogenated chalcones and flavonols over the natural flavonol quercetin[J]. *Eur J Med Chem*, 2013, 65: 500-510.
- [21] Masuoka N, Matsuda M, Kubo I. Characterisation of the antioxidant activity of flavonoids[J]. *Food Chem*, 2012, 131(2): 541-545.
- [22] 杨立芳, 邓丽姚, 姜明国, 等. 毛果鱼藤石油醚提取物对2型糖尿病小鼠炎症因子及血脂的影响[J]. *中药材*, 2019, 42(1): 169-173.
- [23] 魏佳, 曾华霖, 林书颖, 等. 代谢综合征痰证动物模型评价标准研究[J]. *中国中医基础医学杂志*. 2022, 28(10): 1606-1609; 1646.
- [24] 魏佳, 曾华霖, 林书颖, 等. 代谢综合征痰证大鼠模型建立与评价的实验研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2022, 49(6): 195-199.
- [25] 马雷雷, 李继安, 徐文轩, 等. 基于PI3K/Akt通路探讨黄芪总皂苷对2型糖尿病大鼠肌少症的影响[J]. *中成药*, 2024, 46(11): 3612-3619.
- [26] 李缘缘, 魏佳, 黄慧英, 等. 二陈汤对代谢综合征痰证大鼠血清代谢组学的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(5): 1996-2003.
- [27] Ramalho F N, Sanches S C, Foss M C, et al. Aliskiren effect on non-alcoholic steatohepatitis in metabolic syndrome[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2017, 9: 82.
- [28] 邓丽姚, 姜明国, 杨立芳, 等. 壮药毛果鱼藤提取物体内降糖作用的初步研究[J]. *中药材*, 2017, 40(9): 2156-2160.
- [29] Hu S W, Zhao X J, Li R, et al. Activating transcription factor 3, glucolipid metabolism, and metabolic diseases[J]. *J Mol Cell Biol*, 2023, 14(10): njac067.
- [30] Xu Y, Li Y, Jadhav K, et al. Hepatocyte ATF3 protects against atherosclerosis by regulating HDL and bile acid metabolism[J]. *Nat Metab*, 2021, 3(1): 59-74.