

【药效学评价】

枸杞多糖通过上调脂联素的表达缓解小鼠动脉粥样硬化

呼蕾¹, 董玲¹, 屈蕾¹, 王丽滨¹, 吴雯雯¹, 王海芳²

1. 陕西省妇幼保健院 临床实验室, 陕西 西安 710061

2. 陕西省人民医院 陕西省感染与免疫疾病重点实验室, 陕西 西安 710068

摘要: 目的 探究枸杞多糖(LBP)对动脉粥样硬化(AS)小鼠体内脂联素(APN)表达的调控及其调脂抗炎作用机制。方法 普通饲料喂养的C57BL/6J小鼠为对照组,采用高胆固醇饲料喂养ApoE^{-/-}小鼠成功建立AS模型,随机分为模型组和3个LBP组(高、中、低剂量分别为100、50、25 mg/kg)。继续喂养4周后,取主动脉血和组织,分别检测血脂、炎症因子、内皮素-1(ET-1)、APN及其受体(AdipoR1)、AMPK通路相关指标的表达;3T3-L1前脂肪细胞经诱导分化后分为对照组、LBP组和LBP+BML-275组,检测各组中三酰甘油(TG)、炎症因子、APN、AdipoR1、AMPK通路相关指标的表达。结果 与对照组比较,模型组小鼠出现典型的AS病理变化,TG、总胆固醇(TC)、一氧化氮(NO)、ET-1、白介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的水平明显升高,高密度脂蛋白(HDL-C)、APN和AdipoR1、PPAR α 、AMPK α 、p-AMPK α 蛋白表达和酰基辅酶A氧化酶(ACO)mRNA表达均明显降低;与模型组比较,LBP组中AS病理变化得到明显改善,TG、TC、NO、ET-1、IL-6和TNF- α 的水平降低,HDL-C、APN和AdipoR1、PPAR- α 、AMPK α 、p-AMPK α 蛋白及ACO mRNA表达升高,并且这些变化呈剂量相关性。3T3-L1脂肪细胞中,与对照组比较,LBP组的APN、AdipoR1、PPAR α 、AMPK α 、p-AMPK α 和ACO的表达均明显升高,TG、IL-6和TNF- α 的水平明显降低;与LBP组比较,LBP+BML-275组TG、IL-6和TNF- α 水平明显升高。结论 LBP通过上调APN和AdipoR1表达,激活APN/AMPK通路,发挥调脂抗炎作用,从而减缓小鼠动脉粥样硬化。

关键词: 枸杞多糖; 脂联素; AMPK通路; 动脉粥样硬化

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)03-0292-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.03.002

Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on atherosclerosis in mice by up-regulating adiponectin expressionHU Lei¹, DONG Ling¹, QU Lei¹, WANG Li-bin¹, WU Wen-wen¹, WANG Hai-fang²

1. Medical Clinical laboratory, Northwest Women and Children's Hospital, Xi'an 710061, China

2. Shaanxi Provincial Key Laboratory of Infectious and Immunological Diseases, Shaanxi Province People's Hospital, Xi'an 710068, China

Abstract: Objective To explore the effect of *Lycium barbarum* polysaccharide (LBP) on adiponectin (APN) expression and the mechanism of lowering blood-lipid and anti-inflammation in atherosclerotic (AS) mice. **Methods** C57BL/6J mice with normal feed were chosen as control group. Thirty-two ApoE^{-/-} mice with high cholesterol diet were successfully established as AS models, and then the mice were randomly divided into model group and three LBP groups, which were feed with high, medium, and low dose of LBP. After feeding for four weeks, aortic blood and tissues were collected. Blood-lipid, inflammatory factors, endothelin-1 (ET-1), APN, AdipoR1, and AMPK pathway related protein expression were detected. Differentiated 3T3-L1 cells were divided into control group, LBP group, and LBP + BML-275 group. Triglyceride (TG), inflammatory factors, APN, AdipoR1, and AMPK pathway related protein expression was investigated. **Results** In mice, compared with the control group, typical AS pathomorphologic changes

收稿日期: 2016-09-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81573823)

作者简介: 呼蕾(1982—),女,硕士,检验师,研究方向为中药抗炎药理学。Tel: (029)85251331-2609 E-mail: huleilucky@163.com

*通信作者 王海芳(1972—),女,博士,研究员,研究方向为中药抗炎、抗动脉粥样硬化与抗骨质疏松研究。Tel: (029)85251331-2609 E-mail: wanghaifang03@126.com

were found in aorta and the levels of TG, total cholesterol (TC), nitric oxide (NO), ET-1, interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor (TNF- α) in the model group were significantly increased, while the protein expression of HDL-C, APN, AdipoR1, PPAR α , AMPK α , and p-AMPK- α and Acyl-CoA oxidase (ACO) mRNA expression was reduced. Compared with the model group, AS pathomorphologic state was obviously improved in aorta and the amount of TG, TC, NO, ET-1, IL-6, and TNF- α in LBP groups were markedly decreased, while the protein expression of HDL-C, APN, AdipoR1, PPAR α , AMPK α , p-AMPK α , and ACO mRNA expression was up-regulated. These changes were all in a dose-dependent manner. In differentiated 3T3-L1 fat cells, compared with control group, LBP enhanced the expression of APN, AdipoR1, PPAR α , AMPK α , p-AMPK α , and ACO, but decreased the amount of TG, IL-6, and TNF- α . Compared with LBP group, the levels of TG, IL-6 and TNF- α was notably increased in BML-275 group.

Conclusion LBP up-regulates the expression of APN and AdipoR1, activates APN/AMPK pathway, plays a role in lowering blood-lipid and anti-inflammation, and thus relieves AS in mice.

Key words: *Lycium barbarum* polysaccharide; adiponectin; AMPK signaling pathway; atherosclerosis

2014 年全球非传染性疾病现状报告指出,我国心血管疾病引发的病死例数占非传染性疾病死亡的 45%。动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是心血管疾病的主要病理基础,是与血脂代谢异常、内皮受损、平滑肌细胞增殖和血栓形成等有关的慢性炎症性疾病^[1]。

脂联素 (adiponectin, APN, 又称 Acrp30、apM1、AdipoQ、GBP28), 是由脂肪细胞分泌的细胞因子, 通过与其受体结合, 调节糖脂代谢、抗炎、增强胰岛素敏感性、保护血管和抗 AS 等^[2-3]。

枸杞多糖 (*Lycium barbarum* polysaccharide, LBP), 是传统中药宁夏枸杞子的生物活性成分之一, 具有抗衰老、抗氧化、抗辐射、保肝、保护神经和生殖系统、降低血糖和血脂、抗炎、增强机体免疫以及抗肿瘤等作用^[4-8]。多年研究已经证实, LBP 能够降低高脂血症大鼠血脂水平, 改善主动脉氧化应激状态, 延缓 AS 发生^[4]; 通过影响家兔粥样斑块处转化生长因子的表达, 稳定并消退斑块^[7]; 也能够维持人血管内皮功能、促进平滑肌细胞的凋亡, 从而抑制 AS 形成^[9-10]。另有研究报道, LBP 通过上调 APN 表达, 降低 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗和血糖水平^[11], 亦可实现防治肝细胞脂肪变性的作用^[12]。目前 LBP 抗 AS 的研究, 主要着重于调脂降糖疗效、抗炎抗氧化和细胞凋亡基因表达变化等方面^[8], 然而此过程中有关 LBP 与 APN 之间的相互作用以及相关的信号通路尚未明确。

本文重点研究 LBP 对 AS 模型小鼠和脂肪细胞中细胞因子、APN 及其受体、腺嘌呤核苷酸磷酸激酶 [Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK] 和过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 等的表达调控, 旨在探究 LBP 抗 AS 的作

用机制。

1 材料

1.1 药物及主要试剂

LBP, 质量分数为 60%, 购于西安普莱特生物工程有限公司, 生产批号 20141027。

三酰甘油 (Triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 检测试剂盒, 购于四川迈克生物技术有限公司; 一氧化氮 (NO) 检测分析试剂盒和 APN、白介素-6 (Interleukin, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)、内皮素-1 (endothelin, ET-1) ELISA 试剂盒, 购于上海恒远生物科技有限公司; RNA 提取、反转录和荧光定量 PCR 试剂盒, 购于大连 TaKaRa 公司; G1120 HE 染色试剂盒, 购于北京 Solarbio 公司; APN 受体 (adiponectin receptor, AdipoR-1) 抗体 (稀释倍数 1:500)、PPAR α 抗体 (稀释倍数 1:1 000), 购于美国 Santa Cruz Biotechnology 公司; AMPK α 抗体 (稀释倍数 1:1 000)、p-AMPK α (Thr172) 抗体 (稀释倍数 1:100), 购于美国 Cell Signaling Technology 公司; β -actin 抗体 (稀释倍数 1:1 000)、辣根酶标记羊抗兔和羊抗鼠抗体 (稀释倍数为 1:5 000), 购于北京中山金桥生物技术有限公司; AMPK 抑制剂 BML-275, 购于美国 Selleck 公司。

1.2 实验动物与细胞

32 只 8 周龄雄性 ApoE^{-/-}小鼠、8 只具有相同遗传背景的野生型 C57BL/6J 雄性小鼠, 均购于北京大学实验动物中心, 实验动物生产许可证号为 SCXK (京) 2011-0012, 饲养于 SPF 级环境。

3T3-L1 前脂肪细胞, 购于美国 ATCC。

1.3 主要仪器

Ti-U 型显微镜 (日本 Nikon 公司); Sorvall

Stratos 型高速冷冻离心机、Heracell150I 型二氧化碳培养箱(美国 Thermo 公司); 7500 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司); Synergy HT 型酶标仪(美国 BioTek 公司); 7600 型全自动生化分析仪(日本 HITACHI)。

2 方法

2.1 AS 模型的建立与分组

选用 8 只普通饲料喂养的 C57BL/6J 小鼠为对照组、含高胆固醇饲料喂养的 32 只 ApoE^{-/-}小鼠为高脂组, 8 周后随机抽取两组中小鼠各 3 只, 检测血脂, 高脂组 TG 和 TC 明显高于对照组, 标志 AS 模型成功建立。

之后在各组小鼠继续喂食相应饲料的基础上, 高脂组随机分为模型组和 3 个 LBP 组(高、中、低剂量分别为 100、50、25 mg/kg, 剂量选择参照文献^[4, 11, 13]), 每组 8 只。每天上午 ig 给药 1 次, 给药体积 2 mL, 连续给药 4 周, 对照组和模型组给予等体积生理盐水。

2.2 样本收集

小鼠禁食 12 h 以上, 40 mg/kg 戊巴比妥钠 ip 麻醉, 迅速开腹分离出腹主动脉, 取动脉血 0.5~1.0 mL。然后将主动脉用冰冷的生理盐水冲洗, 部分新鲜组织用于提取 RNA 和蛋白, 其余用 4% 多聚甲醛固定。

2.3 HE 染色

固定好的主动脉组织用乙醇进行逐级脱水后, 用石蜡包埋并进行切片; 脱蜡后进行 HE 染色, 乙醇脱水、二甲苯透明、封片, 显微镜下观察病理改变及动脉粥样硬化程度。细胞核呈蓝色, 细胞浆和结缔组织等呈不同程度的红色。

2.4 细胞的诱导与分化

将 3T3-L1 前脂肪细胞按 1×10^6 个细胞/孔的密度接种于 6 孔培养板, 用含 10% 胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养液在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养; 待细胞长满并融合 2 d 后, 加入终浓度分别为 0.5 mmol/L 的异丁基甲基黄嘌呤、1 μmol/L 的地塞米松和 10 μg/mL 的胰岛素诱导分化, 培养 48 h 后换成

含终质量浓度为 10 μg/mL 胰岛素和 10% FBS 的 DMEM 培养液继续培养 48 h, 之后换为含 10% FBS 的 DMEM 培养液继续培养, 每 2 天更换一次培养液, 诱导分化 8~12 d 后, 待 90% 以上的 3T3-L1 细胞呈成熟脂肪细胞表型时可用于后续实验。

2.5 脂肪细胞实验中 LBP 浓度的选择

将成熟的 3T3-L1 脂肪细胞按 4×10^3 个/孔的密度接种于 96 孔板中培养 24 h, 加入浓度为 0、10、25、50、100 μmol/L 的 LBP 作用 48 h 后, 每孔加入 20 μL 质量浓度为 5 mg/mL 的 MTT, 4 h 后弃培养液, 每孔加入 150 μL DMSO, 常温震荡 10 min 后在 562 nm 处测定吸光度(A)值, 检测细胞活力的变化, 选择细胞活力较高时的 LBP 浓度进行后续实验。

将成熟的 3T3-L1 脂肪细胞以细胞密度 1×10^5 个/孔接种于 6 孔板中培养 24 h, 分为对照组、LBP (25 μmol/L) 组、LBP (25 μmol/L) + BML-275 (50 mmol/L) 组, 作用 48 h 后检测相关生化指标。

2.6 血脂和细胞因子的测定

37 °C-液氮反复冻融 3 次裂解待测脂肪细胞, 1 000 r/min 离心 5 min, 收集裂解液。动脉血和待测细胞的培养液均以 3 000 r/min 离心 10 min, 收集血清和细胞上清。用全自动生化分析仪检测血清中 TG、TC、HDL-C 水平, 按照试剂盒的说明书分别检测血清中 NO、ET-1、IL-6、TNF-α、APN 水平、细胞中 TG 的水平以及细胞培养液上清中 IL-6、TNF-α、APN 的水平。

2.7 RT-qPCR 实验

利用 TaKaRa 公司的 RNA 提取试剂盒提取待测组织和细胞的总 RNA, 凯奥 K5500 超微量分光光度计测定 RNA 的浓度与纯度, 电泳检测 RNA 的完整性。使用反转录试剂盒将其逆转录成 cDNA, 用荧光定量 PCR 试剂盒进行 RT-qPCR。以 β-actin 为内参, 分别用 2^{-ΔΔCt} 法分析 APN、AdipoR1 和酰基辅酶 A 氧化酶 (Acyl-CoA oxidase, ACO) 在 mRNA 水平的表达。实验中的 RT-qPCR 引物由上海生工公司合成, 序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

Table 1 Sequences of RT-qPCR primers

基因	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')
ACO	TAAGCCTTTGCCAGGTATT	ATGGTCCCGTAGGTCAG
APN	TTGGTCCTAAGGGAGACATC	CAGTGGAGCCATCATAGTGG
AdipoR1	AACTGGACTATTCAGGGA	CTGATGAGACTGGAACCA
β-actin	AACAGTCCGCCTAGAAGCAC	CGTTGACATCCGTAAAGACC

2.8 Western blotting 检测蛋白表达

取液氮中的主动脉组织剪碎后置于玻璃匀浆器中,加少量液氮充分匀浆,再加入 RIPA 全裂解液充分裂解提取总蛋白。取待测细胞用 PBS 洗 2 次,再加入 RIPA 全裂解液裂解提取总蛋白。蛋白定量后,取 50 μg 总蛋白用 10% SDS-PAGE 凝胶进行电泳,湿法转膜后用 5% 脱脂奶粉常温孵育 1.5 h, PBST 洗膜,再按比例加入蛋白 AdipoR-1、PPARα、AMPKα、p-AMPK-α 和 β-actin 的抗体,4 °C 孵育 12 h, PBST 洗膜,加辣根过氧化物酶标记的二抗(稀释比例 1:5 000)常温孵育 2 h, PBST 洗膜后加入 ECL 发光液观察蛋白条带。

2.9 统计学分析

所有数据均使用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理。数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验法,

多组间比较先用单因素方差分析再用 *LSD* 检验进行两两比较。

3 结果

3.1 LBP 减缓小鼠 AS 进程

与对照组比较,模型组主动脉内细胞排序乱,管壁增厚,出现大量脂质沉积、斑块面积增加和纤维组织增生等典型的 AS 病理变化;与模型组比较,LBP 组斑块面积减少,AS 管壁增厚、脂质沉积等病理状况得到明显改善,结果见图 1。

与对照组比较,模型组中 TG、TC、NO、ET-1、TNF-α 和 IL-6 的水平均显著上升,HDL-C 的水平显著下降 ($P < 0.05$);与模型组比较,LBP 组 TG、TC、NO、ET-1、TNF-α 和 IL-6 的水平显著降低,HDL-C 的水平显著升高 ($P < 0.05$),且这些变化呈现剂量相关性,结果见图 2。

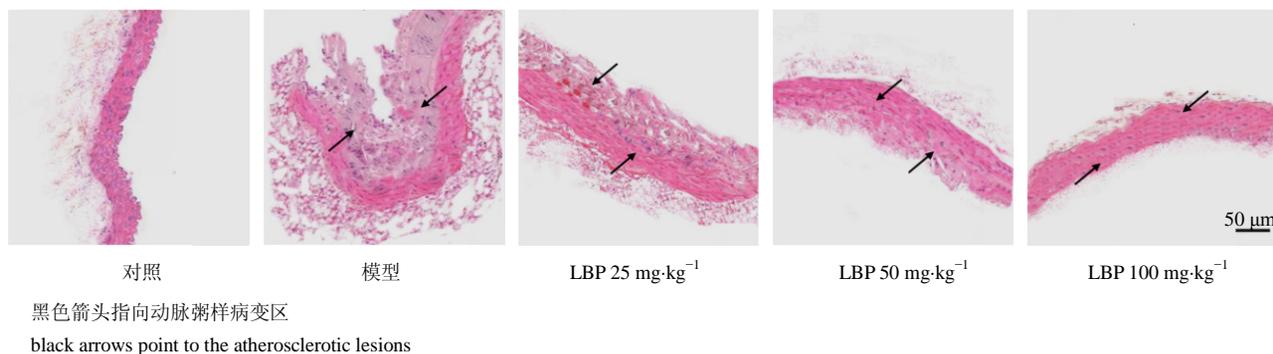
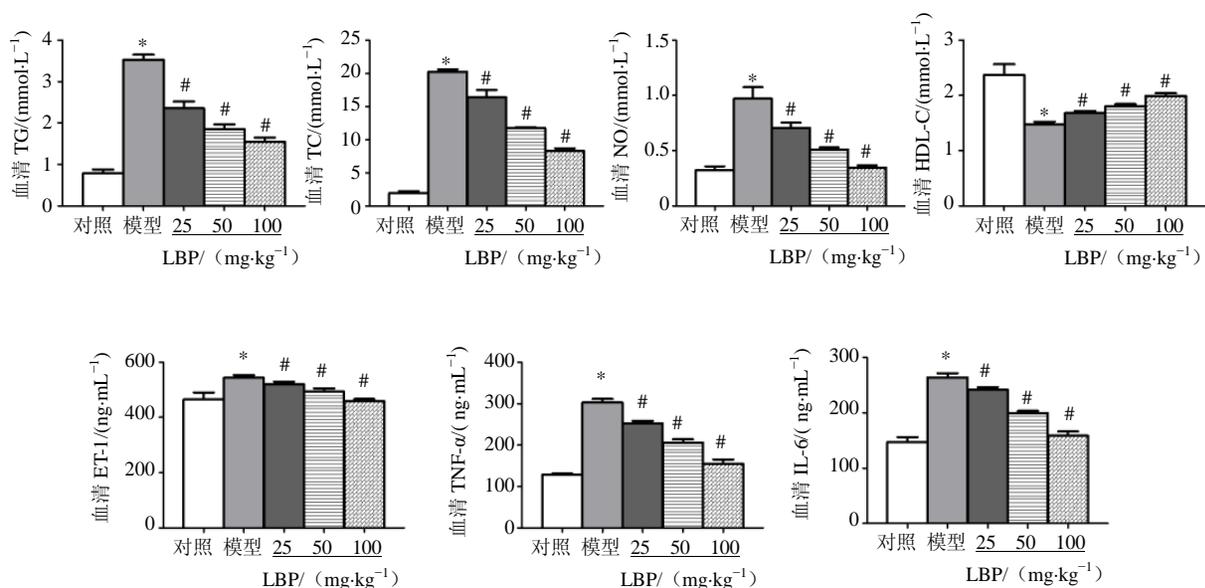


图 1 HE 染色观察 LBP 对小鼠主动脉病理形态学的影响

Fig. 1 Effect of LBP on aortic pathomorphology in mice, as visualized using HE staining



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group

图 2 LBP 影响 AS 模型小鼠中血脂和细胞因子的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 2 Effect of LBP on blood-lipid and cell factors in AS mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.2 LBP 促进 APN 和 AdipoR1 的表达

与对照组比较, 模型组中 APN 与 AdipoR1 mRNA 和蛋白水平的表达均明显减少 ($P < 0.05$); 与模型组比较, LBP 组中 APN 与 AdipoR1 mRNA 和蛋白水平的表达均明显增加 ($P < 0.05$), 且呈现剂量相关性, 结果见图 3。

3T3-L1 脂肪细胞中, 加入的 LBP 浓度从 10 $\mu\text{mol/L}$ 到 25 $\mu\text{mol/L}$ 时细胞活力增加, 大于 25 $\mu\text{mol/L}$ 时细胞活力受到抑制, 因此后续实验中 LBP 浓度选择 25 $\mu\text{mol/L}$ 。与对照组比较, LBP 组中 APN 与 AdipoR1 mRNA 和蛋白水平的表达均明显上调 ($P < 0.05$)。结果见图 4。

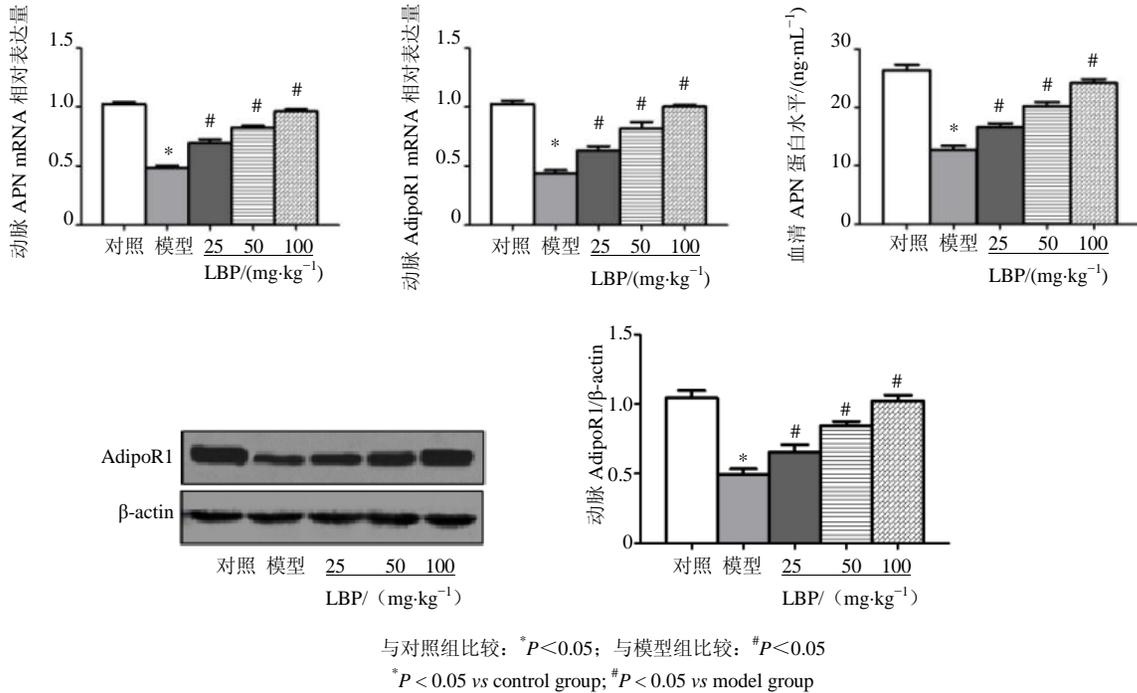


图 3 LBP 促进 AS 模型小鼠 APN 和 AdipoR1 的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 3 Effect of LBP on expression of APN and AdipoR1 in AS mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

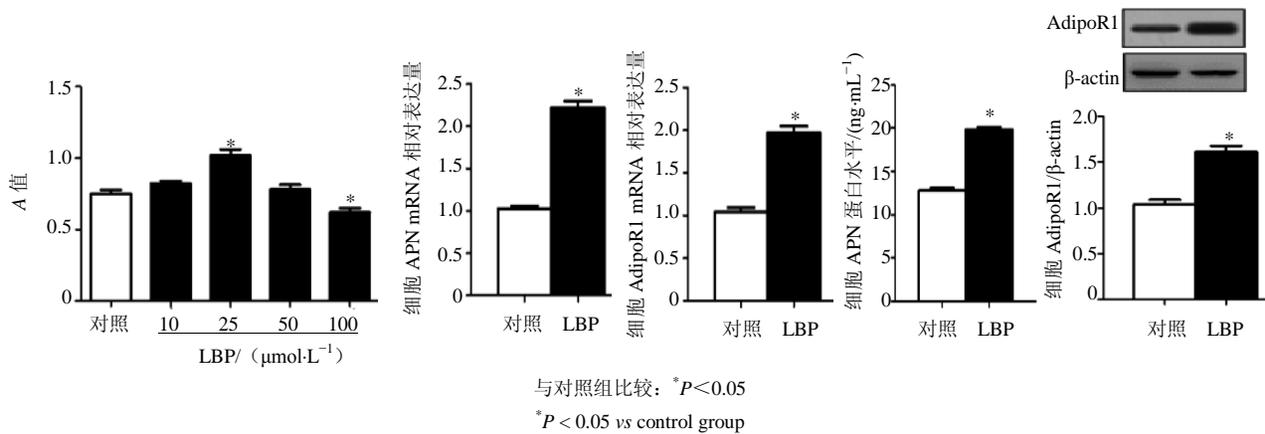


图 4 LBP 促进 3T3-L1 脂肪细胞中 APN 和 AdipoR1 的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of LBP on expression of APN and AdipoR1 in differentiated 3T3-L1 fat cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.3 LBP 激活 APN/AMPK 通路

小鼠主动脉组织中, 与对照组比较, 模型组 AMPK α 、p-AMPK α 、PPAR α 的蛋白表达和 ACO 的 mRNA 表达均明显减少 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 不同剂量的 LBP 组中 AMPK α 、p-AMPK α 、PPAR α

的蛋白表达和 ACO 的 mRNA 表达均明显增加 ($P < 0.05$), 且呈现剂量相关性, 结果见图 5。

3T3-L1 脂肪细胞中, 与对照组比较, LBP 组的 AMPK α 、p-AMPK α 、PPAR α 的蛋白表达和 ACO 的 mRNA 表达均明显升高 ($P < 0.05$), 结果见图 6。

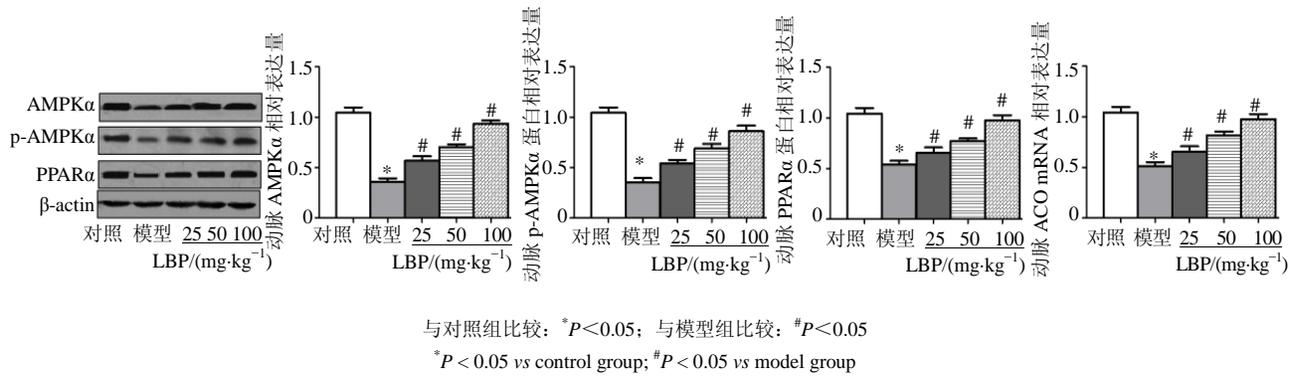


图5 LBP 激活 AS 小鼠 APN/AMPK 通路 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 5 LBP activated APN/AMPK signaling pathway in AS mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

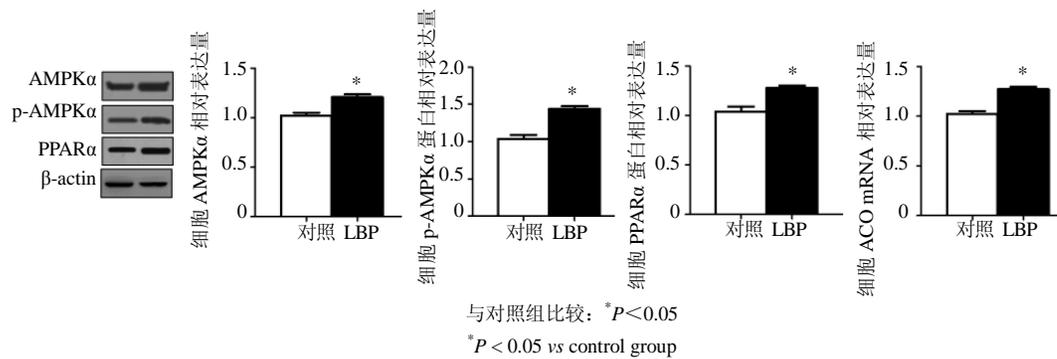


图6 LBP 激活 3T3-L1 脂肪细胞中 APN/AMPK 通路 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 LBP activated APN/AMPK signaling pathway in differentiated 3T3-L1 fat cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.4 LBP 通过作用 AMPK 通路降脂抗炎

与对照组比较, LBP 组的 TG、IL-6 和 TNF- α 的水平明显降低 ($P < 0.05$); 与 LBP 组比较,

LBP+BML-275 组中 TG、IL-6 和 TNF- α 的水平明显升高 ($P < 0.05$), BML-275 部分取消了 LBP 的抗炎作用, 说明 LBP 通过 AMPK 通路抗炎。见图 7。

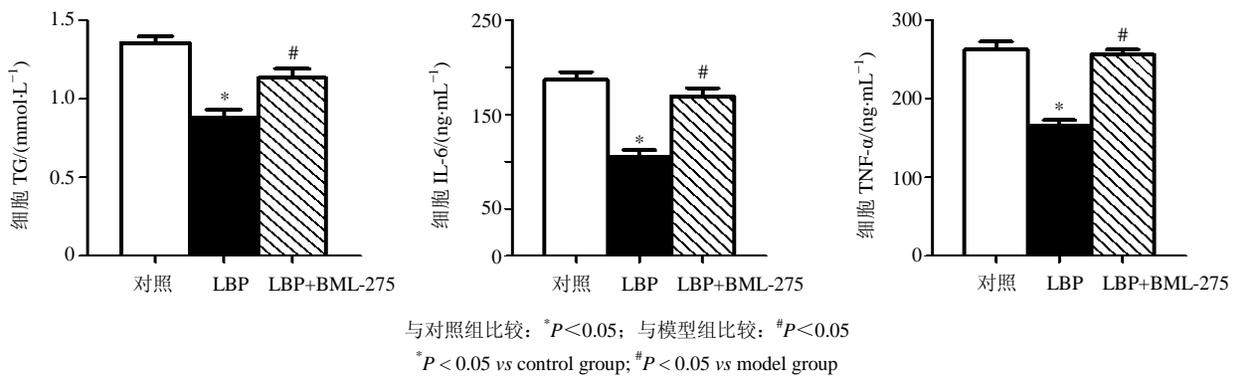


图7 BML-275 对 LBP 调节 3T3-L1 脂肪细胞中 TG、IL-6 和 TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effects of BML-275 on levels of TG, IL-6, and TNF- α in differentiated 3T3-L1 fat cells regulated by LBP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

高胆固醇血症、脂质过氧化和炎症反应是诱发 AS 的重要因素。单核-巨噬细胞、树突状细胞、T 细胞等免疫细胞以及白介素家族、TNF- α 等细胞因子贯穿其发病过程。脂质沉积于动脉壁, 刺激炎症

细胞因子分泌, 活化激活蛋白-1 和核因子 (nuclear factor, NF- κ B), 介导 AS 的炎症反应^[14-15]。大量研究证实 IL-6 可导致内皮细胞的活化、平滑肌细胞的增生以及粥样病变的发生; TNF- α 在 AS 斑块中高表达, 不仅通过增强局部炎症反应、改变脂质代谢平

衡促进 AS 炎症反应, 而且通过诱导细胞坏死、新生血管形成及血栓形成促进 AS 易损斑块的发生^[16]。ET-1 通过激活活性氧-NF- κ B 信号通路, 刺激血管内皮细胞表达黏附分子, 促使血管平滑肌细胞产生 C 反应蛋白, 同时诱导单核细胞表达促炎因子, 从而诱发 AS 炎症反应^[14, 16-17]。研究发现, LBP 能够下调高脂高糖模型小鼠的血脂和血糖水平, 明显降低血清中 IL-6、TNF- α 和黏附分子等的水平, 影响下游 NF- κ B 通路, 从而发挥抗炎、抗糖尿病^[9]及抑制脂肪肝形成^[18]等作用。本研究通过高脂饲料喂养 ApoE^{-/-}小鼠成功建立 AS 模型, 加入 LBP 后, 主动脉粥样斑块减少, TG、TC 水平降低, HDL-C 的水平升高, ET-1、IL-6 和 TNF- α 等细胞因子表达减少, 并且以高剂量 LBP 组的变化最为明显。结果表明, LBP 能够抗炎调血脂, 影响 AS 的病变进程。这与之前 LBP 抗 AS 的相关研究相符^[4]。

APN 是一种多效的脂肪细胞因子, 具有心血管保护作用, 是公认的抗炎和抗 AS 的分子。低 APN 血症可诱发 AS 病变, 加入抗 AS 药物能够改善该病症^[2]。有文献报道, 外源性 APN 能够减缓 ApoE^{-/-}小鼠模型中 AS 病变进程^[19], 影响人脐静脉内皮细胞内 NO 合酶和 ET-1 的分泌, 维持内皮细胞的正常功能^[13, 19]。本研究发现, 在 AS 模型小鼠的主动脉血和组织以及 3T3-L1 脂肪细胞内, LBP 均可增加 APN 和 AdipoR1 的表达, 并且与 LBP 的剂量呈正相关。这些结果表明 LBP 通过增加 APN 和 AdipoR1 的表达, 抑制 AS 的形成。

APN 与其受体结合后, 通过激活 AMPK 和 PPAR 等多个细胞内信号分子发挥作用^[13, 21]。AdipoR1 主要激活 AMPK, 而 AdipoR2 主要激活 PPAR。AMPK 能够调节机体的能量代谢, 维持能量的供求平衡, 改善代谢综合征^[17]。有研究显示 APN 通过激活 AMPK α 及其下游的 PPAR α , 上调靶基因 ACO 的表达从而增强肝细胞的脂氧化作用; AMPK 能够抑制脂肪酸的合成和转运过程, 从而减少肝脏内脂质聚积^[22]。本研究中 AS 模型组的 AMPK α 、PPAR α 、p-AMPK α 和 ACO 等蛋白的表达均受到抑制, 加入 LBP 能够增加这些蛋白在主动脉组织和 3T3-L1 脂肪细胞中的表达。表明 LBP 能够激活 AMPK α 及其下游的 PPAR α 的转录表达。

有研究显示, LBP 通过激活 AMPK, 抑制小鼠脂肪肝进程^[23]。BML-275 是 AMPK 的抑制剂, 可以抑制 AMPK α 及其下游的 PPAR α 的转录表达, 减

弱脂氧化作用, 增加脂质的蓄积, 诱发炎症反应^[22]。本研究发现, 与对照组比较, LBP 能够降低 3T3-L1 成熟脂肪细胞中 TG、IL-6 和 TNF- α 的水平, 加入 BML-275 能够逆转 LBP 的作用。这说明 LBP 很可能是通过激活 AMPK 通路发挥降脂抗炎的作用。

综上所述, LBP 能够促进 APN 的表达, 激活 AMPK 通路, 促使下游靶基因转录表达, 增强脂氧化作用, 减少脂质沉积, 抑制炎症因子的分泌, 从而减缓 AS 进程。本研究为 LBP 抗 AS 进程提供了详细的分子机制, 也为找到更加有效的治疗药物提供了理论支撑。

参考文献

- [1] 张娜, 李林森. 炎症与动脉粥样硬化关系的新认识及有关中药的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(4): 302-306.
- [2] Gasbarrino K, Gorgui J, Nauche B, et al. Circulating adiponectin and carotid intima-media thickness: A systematic review and meta-analysis [J]. Metabolism, 2016, 65(7): 968-986.
- [3] 李晶, 程文俊, 马宇虹. 脂联素在心血管疾病中的研究进展 [J]. 中国医药导报, 2016, 13(09): 76-79.
- [4] Zhu X, Hu S, Zhu L, et al. Effects of *Lycium barbarum* polysaccharides on oxidative stress in hyperlipidemic mice following chronic composite psychological stress intervention [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(5): 3445-3450.
- [5] Gao K, Liu M, Cao J, et al. Protective effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on 6-OHDA-induced apoptosis in PC12 cells through the ROS-NO pathway [J]. Molecules, 2015, 20(1): 293-308.
- [6] Zhao R, Hao W, Ma B, et al. Improvement effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on sub-health mice [J]. Iran J Basic Med Sci, 2015, 18(12): 1245-1252.
- [7] 郭敏, 乌兰托雅, 李刚. 枸杞多糖药理作用的研究进展 [J]. 华西药理学杂志, 2013, 28(6): 633-635.
- [8] 卫裴, 梁杰, 吴志贤. 枸杞多糖药理学功效研究综述 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(6): 247-249.
- [9] Du M, Hu X, Kou L, et al. *Lycium barbarum* Polysaccharide mediated the antidiabetic and antinephritic effects in diet-streptozotocin-induced diabetic sprague dawley rats via regulation of NF- κ B [J]. BioMed Res Int, 2016, 2016: 3140290. doi: 10.1155/2016/3140290. Epub 2016 Apr 21.
- [10] 尹逊天, 王巍, 朱玉峰, 等. 枸杞多糖对人脐静脉血管内皮细胞的增殖、迁移及血管形成的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(8): 1819-1822.
- [11] 宗灿华, 田丽梅. 枸杞多糖对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵

- 抗及脂联素基因表达的影响 [J]. 中国康复理论与实践, 2008, 14(6): 531-532.
- [12] 郭芑利, 古 赛. 枸杞多糖防治非酒精性脂肪肝细胞水平的研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(11): 1481-1485.
- [13] Ehsan M, Singh K K, Lovren F, et al. Adiponectin limits monocytic microparticle-induced endothelial activation by modulation of the AMPK, Akt and NFkappaB signaling pathways [J]. Atherosclerosis, 2016, 245: 1-11.
- [14] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. Nature, 2002, 420(6917): 868-874.
- [15] Libby P. History of Discovery: Inflammation in Atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(9): 2045-2051.
- [16] 赵荷琚, 李 兴. 脂肪细胞因子与动脉粥样硬化 [J]. 心血管病学进展, 2010, 31(6): 857-860.
- [17] 刘俊田. 动脉粥样硬化发病的炎症机制的研究进展 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2015, 36(02): 141-152.
- [18] Xiao J, Liang E C, Ching Y P, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides protect mice liver from carbon tetrachloride-induced oxidative stress and necroinflammation [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 139(2): 462-470.
- [19] Wang X, Chen Q, Pu H, et al. Adiponectin improves NF- κ B-mediated inflammation and abates atherosclerosis progression in apolipoprotein E-deficient mice [J]. Lipids Health Dis, 2016, 15: 33.
- [20] Wang Z V, Scherer P E. Adiponectin, the past two decades [J]. J Mol Cell Biol, 2016, 8(2): 93-100.
- [21] 王 彦, 陈思思, 廉 如, 等. 脂联素的球状结构域对3T3-L1脂肪细胞胰岛素抵抗模型AMPK信号通路的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 28(09): 662-664.
- [22] Chen H, Zhang L, Li X, et al. Adiponectin activates the AMPK signaling pathway to regulate lipid metabolism in bovine hepatocytes [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2013, 138: 445-454.
- [23] Li W, Li Y, Wang Q, et al. Crude extracts from *Lycium barbarum* suppress SREBP-1c expression and prevent diet-induced fatty liver through AMPK activation [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 196198.