

姜黄素对非酒精性脂肪肝小鼠代谢组学的调控研究

魏青丽, 孙润彬, 阿基业, 谢媛*

中国药科大学药物代谢动力学重点实验室, 江苏 南京 210000

摘要: 目的 探讨姜黄素(CUR)对非酒精性脂肪肝病(NAFLD)的代谢调节作用。方法 小鼠适应性饲养3 d后, 随机分为3组: 对照(C)组、高脂饮食模型(HFD)组、CUR(50 mg/kg)组。C组饲喂普通饲料, HFD和CUR组饲喂高脂饲料, CUR同时ig给药10周, C组和HFD组ig给予0.5% CMC-Na溶液, 给药体积均为10 mL/kg。给药结束后, 取血和肝脏, 肝组织切片后进行HE染色和油红O染色, 光学显微镜观察病理变化; 采用基于气相色谱-质谱联用(GC/MS)的代谢组学方法检测血清和肝脏组织样品, 数据通过Simca-P13.0及Metaboanalysis网络工具进行分析, 找出代谢组变化趋势和相关差异化合物。此外, 制备小鼠肝原代细胞, 棕榈酸(PA)100 mmol/L诱导细胞NAFLD体外模型, 观察CUR(10 μ mol/L)对代谢组变化的影响。**结果** 油红O染色结果显示, HFD小鼠肝脏组织存在大量红染油滴, CUR组小鼠肝脏组织中的脂质油滴明显减少。HE染色分析显示, 与C组比较, HFD组小鼠肝脏组织有空泡状, CUR组小鼠肝脏组织与C组比较没有明显区别。对血清样和肝组织样品的GC-MS数据进行PLS-DA分析发现C组与HFD组偏离较远, 而CUR组与HFD组相比出现向C组偏移的趋势, 进一步S-plot分析发现影响较大的代谢为胆固醇的合成、酮体的生成以及氨基酸代谢, 细胞实验得到了类似的结果; 经通路MetPA分析和代谢产物富集, 血清和细胞中各组间差异化合物代谢主要集中在氨基酸代谢, 肝脏中代谢差异主要集中在氨基酸代谢和部分脂质代谢通路; 进一步进行差异代谢物的筛选, HFD组生糖氨基酸和生酮氨基酸较对照组均有不同程度的升高, CUR能够降低这些氨基酸的水平。**结论** 高脂饮食会造成小鼠三大代谢的异常, 姜黄素能够一定程度上改善小鼠代谢紊乱。

关键词: 非酒精性脂肪肝病; 姜黄素; 小鼠原代肝细胞; 代谢组学

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2019)03-0402-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.03.005

Metabolomics study of curcumin in mice with nonalcoholic fatty liver disease

WEI Qingli, SUN Runbin, A Jiye, XIE Yuan

Key Lab of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210000, China

Abstract: **Objective** To investigate the metabolic regulation of curcumin (CUR) on mice with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** After 3 days of adaptive feeding, mice were randomly divided into three groups: control group (C), high fat diet model (HFD) group and CUR (50 mg/kg) group. Group C was fed with common diet, group HFD and CRU were fed with high-fat diet, and Ig was given for 10 weeks. Group C and HFD were given 0.5% CMC-Na solution, the volume of administration was 10 mL/kg. After administration, blood and liver were taken, liver tissue sections were stained with HE and oil red O, and pathological changes were observed by optical microscopy. Serum and liver tissue samples were detected by metabolomics method based on gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The data were analyzed by Simca-P13.0 and Metaboanalysis network tools to find the trend of metabolome changes and related differential compounds. In addition, primary hepatocytes of mice were prepared and NAFLD was induced by palmitic acid (PA) 100 mmol/L in vitro. The effects of CUR (10 micromol/L) on metabolites were observed. **Results** Oil red O staining results showed that there were a large number of red oil droplets in liver tissue of HFD mice, and lipid oil droplets in liver tissue of CUR mice were significantly reduced. HE staining analysis showed that there were vacuoles in the liver tissue of HFD mice compared with group C, and there was no significant difference between the liver tissue of CUR

收稿日期: 2019-01-04

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81673679)

第一作者: 魏青丽, 研究方向为药代动力学。E-mail: wyyxwql0514@163.com

*通信作者: 谢媛, 研究方向为药代动力学。E-mail: yuanxie58@Yahoo.com

mice and that of group C. PLS-DA analysis of GC-MS data of serum and liver tissue samples showed that group C deviated from group HFD, while group CUR deviated from group C. Further S-plot analysis showed that cholesterol synthesis, ketone body formation and amino acid metabolism were the most influential metabolites. Similar results were obtained in cell experiments through pathway MetPA analysis and metabolite enrichment. The metabolic differences between groups in serum and cells were mainly concentrated in amino acid metabolism, while those in liver were mainly concentrated in amino acid metabolism and some lipid metabolism pathways. Further screening of different metabolites showed that the levels of sugar-producing amino acids and ketogenic amino acids in HFD group were higher than those in control group, and CUR could reduce the levels of these amino acids.

Conclusion High fat diet can cause three major metabolic abnormalities in mice, curcumin can improve the metabolic disorders in mice to a certain extent.

Key words: NAFLD; curcumin; the primary hepatocytes of mice; metabolomics

非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指不存在过量饮酒或其他已知肝脏疾病的情况下,肝脏中脂肪堆积^[1],其主要病理特征是肝细胞脂肪变性(超过5%~10%的肝细胞具有肉眼可见的脂肪变性)^[2];从肝脏脂肪堆积开始,逐渐演变成非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)等^[3]。随着人们生活水平的提高,饮食结构发生改变以及久坐不动等的不良生活方式增加,NAFLD在全球范围内的患病率呈上升趋势。据统计,我国普通成人NAFLD患病率为15%~30%^[4],且逐年上升,NAFLD现已成为慢性肝病最常见的原因^[5],因此对NAFLD的研究受到越来越多的关注,研究非酒精性脂肪肝状态下机体代谢变化和调控具有重要意义。

姜黄素(curcumin, CUR), 1, 7-双(4-羟基-3-甲氧基苯基)-1, 6-庚二烯-3, 5-二酮,是一种从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的多酚类物质,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抗抑郁等多种生物学效应^[6-8]。其中,抗氧化及抗炎活性可产生多种生物学效应,可能与代谢综合征的改善密切相关^[9]。本课题组的前期研究与相关临床研究表明^[10], CUR能够降低NAFLD动物模型和患者血清中的总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、三酰甘油(TG)水平,并且能够改善患者肝脏的脂肪变性程度。有研究认为^[11], CUR可以抑制肝脏糖异生和糖原分解,影响肝脏的3大代谢过程。

代谢组学是继基因组学和蛋白质组学后出现的以定量描述生物体内多种代谢物动态变化为目标的新兴学科,是系统生物学的重要组成部分^[12-14]。代谢组学通过定量检测以及主成分分析^[15]来研究体内小分子化合物水平及其机体基础代谢的变化,可以发现与疾病密切相关的异常代谢途径和特征

生物标志物,研究和分析这些异常变化还可为进一步阐明疾病发病机制提供依据。本文通过对CUR治疗NAFLD小鼠后代代谢组学变化的研究,寻找其代谢变化规律,为CUR治疗NAFLD提供理论依据。

1 材料

1.1 药物与主要试剂

CUR(纯度≥98%),购自于南京泽朗医药科技有限公司;棕榈酸(PA, Sinoreagent化学试剂);DMEM高糖培养基、胎牛血清(Gibco公司);胰蛋白酶、IV型胶原酶(Biosharp公司);RIPA强裂解液(碧云天生物技术研究);青霉素、链霉素(南京生兴生物工程公司);1, 2-¹³C₂-肉蔻酸(稳定的同位素内标,质量分数≥99%, Isotec, 美国)、吡啶、N-甲基-N-三甲基硅烷三氟乙酰胺(含1% TMCS)、羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、甲基肉蔻酸、甲醇、正庚烷,均购自美国Sigma-Aldrich;超纯水(自制, Milli-pore, 美国)。

1.2 实验仪器

SHIMADZU QP2010Ultra/SEGC-MS系统装配化学结合RTx-5MS的30 mm×0.25 mm弹性石英毛细管柱(AOC-20S自动进样系统);Sovall Biofuge Stratos高速冷冻离心机;Thermo分体式真空离心浓缩挥发仪(Se250EXP, RVT400, OFP400);Sovall Biofuge Stratos高速冷冻离心机;XW-80A台式涡旋振荡器;Minispin小型高速离心机(德国Eppendorf公司);Thermo Savant SPD 2010离心浓缩装置(Thermo Co, MA, USA);Milli-Q Gradient A10超纯水机(Millipore Inc. USA);Thermo IEC低温高速离心机(Thermo CO, MA, USA), Leica DMI3000B(Germany)莱卡荧光倒置显微镜。

1.3 动物

体质量18~22 g的C57BL/6J雄性小鼠, SPF级, 购自常州卡文斯实验动物有限公司, 实验动物生产许可证号SCXK(苏)2016-0010, 动物自由摄食

和饮水,饲养于 $(23\pm 2)^{\circ}\text{C}$,分笼饲养,并保持昼夜规律。

1.4 细胞

小鼠原代肝细胞分离自4周龄雄性C57BL/6J小鼠,SPF级,购自常州卡文斯实验动物有限公司,许可证号SCXK(苏)2016-0010,饲养于 $(23\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 环境中,给予正常饮食和自由摄食饮水。

2 方法

2.1 给药方案

小鼠适应性饲养3 d后,随机分为3组,分别为对照(C)组、高脂饮食模型(HFD)组、CUR(50 mg/kg)^[16]组。C组饲喂普通饲料,HFD组和CUR组饲喂高脂饲料(10%猪油、10%蛋黄、1%胆固醇、0.2%胆盐和78.8%普通饲料粉的混合物)^[16],CUR同时ig给药10周,C组和HFD组ig给予0.5% CMC-Na溶液,给药体积均为10 mL/kg。第10周末,禁食10 h,次日清晨取血,常规分离血清,取肝脏组织,−80 °C保存备用。

2.2 药物配制

CUR(动物给药):用0.5% CMC-Na溶液研磨均匀。

CUR(细胞给药):称取18.4 mg CUR,用1 mL DMSO混悬,配制成50 mmol/L的母液,临用前稀释,使得细胞上清液药物指定浓度为10 μmol/L^[16]。

PA(细胞给药):称取51.3 mg CUR,用1 mL无水乙醇溶解,配制成0.2 mol/L的母液。用10% BSA(0.5 g BSA溶于5 mL PBS)稀释到10 mmol/L备用。临用前稀释,使得细胞上清液药物浓度为100 mmol/L。用于诱导肝原代细胞NAFLD体外模型。

2.3 小鼠肝原代细胞的提取和培养

选择4周龄雄性C57BL/6J小鼠,脱颈椎处死后,用75%乙醇浸泡消毒1 min,在超净台内打开腹腔,暴露肝脏和肝门静脉。用注射器吸取20 mL HBSS,将其安置在静脉输液针上,排空气泡,从肝门静脉穿刺,缓慢匀速灌注至肝脏完全变灰黄。然后再灌注含有0.05% IV型胶原酶液至肝叶发黄,表面有液体渗出。将整个肝脏组织剪下,置于盛有无血清培养基的研钵中,抖动肝脏组织,使得肝细胞脱落。将容器内的悬液吸取于离心管中,500 r/min离心2 min。弃上清,加入适当完全培养基(含10% FBS的DMEM培养基),吹打混匀,接种于盛有完全培养基的培养皿中。置于37 °C、5% CO₂孵箱中培养过夜贴壁。

2.4 HE染色和油红O染色

HE染色:小鼠处死后,每组取4只同一部位的肝脏组织,固定于4%多聚甲醛24 h以上;组织石蜡包埋切片,HE染色,在显微镜下观察染色情况。

油红O染色:小鼠处死后,每组取4只同一部位的肝脏组织,固定于4%多聚甲醛24 h以上;冰冻切片制片,油红O染色,在显微镜下观察染色情况。

2.5 代谢组学测定

2.5.1 血清 取50 μL血清加入200 μL含有内标1,2-¹³C₂-肉蔻酸的甲醇溶液(2.5 μg/mL),涡旋振荡3 min,4 °C静置1 h。4 °C,20 000×g离心10 min。取80 μL上清液于GC小瓶中,减压挥干溶剂,GC小瓶中加入30 μL甲氧胺吡啶溶液(10 mg/mL),涡旋振荡3 min,室温静置16 h进行肟化,然后加入30 μL衍生化试剂MSTFA(含1%TMCS),涡旋振荡3 min,室温静置1 h进行硅烷化,最后再加入30 μL含外标甲基肉蔻酸的庚烷溶液(15 μg/mL),混匀后进行气相色谱-质谱联用(GC/MS)检测^[17]。

2.5.2 肝组织 取30 mg肝组织,加入600 μL含内标1,2-¹³C₂-肉蔻酸的80%甲醇-水(5 μg/mL),钢珠震荡匀浆;4 °C静置1 h;20 000×g离心10 min,转上清100 μL于内插管底部,真空挥干仪挥干3.5 h(不加热,真空度10, ramp 4);后续操作同“2.5.1”项,然后进行GC/MS检测。

2.5.3 原代细胞 取对数生长期细胞,以10⁵的密度铺6孔板,分为对照(C)组,PA模型组,CUR组。用含血清的正常培养基培养,待细胞长到80%后弃去培养基,PA组换成含PA(100 mmol/L)的培养基,CUR组换成含PA和CUR(10 μmol/L)^[14]的培养基,培养24 h。弃去培养基并用冰等渗溶液(0.9%NaCl)清洗2次,每孔中加入300 μL超纯水置于一70 °C保存。需要测定时取出细胞板,冻融3次。最后将已融化的细胞液轻轻刮下,放置于1.5 mL EP管中。取20 μL于另一个1.5 mL EP管中用来测定蛋白含量,剩余的280 μL细胞液加入420 μL的甲醇(含内标1,2-¹³C₂-肉蔻酸2.5 μg/mL),于涡旋振荡器上震荡5 min,4 °C冰箱静置1 h,20 000×g高速离心10 min。取400 μL上清于GC小瓶中,45 °C真空挥干3 h,后续操作同“2.5.1”项,然后进行GC/MS检测。

2.6 数据处理

代谢组学数据首先运用相似度搜寻方式对比未知化合物质谱图和已知库内的质谱图(NIST 14, Wiley 9),对色谱中各个时间化合物进行鉴定,鉴定

后根据各个化合物的质荷比对各个化合物峰进行积分。得到的积分数据运用内标外标校正,再运用蛋白量校正。所得积分数值通过 Simca-P13.0 进行分析,并用 Metaboanalysis 网络工具进行分析。

3 结果

3.1 CUR 对高脂诱导的 NAFLD 小鼠肝组织病理学的影响

如图 1-A 所示,经油红 O 染色后,与 C 组比较,HFD 小鼠肝脏组织存在大量红染油滴,CUR 组小鼠肝脏组织中的脂质油滴明显减少。HE 染色分析显示(图 1-B),与 C 组比较,HFD 组小鼠肝脏组织有空泡状,CUR 组小鼠肝脏组织与 C 组比较没有明显区别,提示 CUR 能够有效缓解高脂饮食带来的肝脏脂质累积。

3.2 代谢组学分析

3.2.1 总离子色谱峰 运用已建立的 GC/MS 方法^[15]进行代谢组测定,血清、肝脏、细胞样品离子色谱图及鉴定出的化合物见图 2。

3.2.2 代谢通路异常和代谢物差异 对血清样品(图 3-A)和肝组织样品(图 3-B)的 GC-MS 数据进行 PLS-DA 分析发现 C 组与 HFD 组偏离较远,提示高脂饮食显著改变了小鼠的代谢组,而 CUR 组与 HFD 组相比出现向 C 组偏移的趋势,提示 CUR 逆转高脂饮食对小鼠代谢组产生的影响;进一步 S-plot 分析发现影响较大的代谢为胆固醇的合成、酮体的生成以及氨基酸代谢,如丙氨酸代谢、酪氨酸代谢、

缬氨酸代谢等。

细胞实验得到了类似的结果,对原代肝细胞样品的 GC-MS 数据进行 PLS-DA 分析,同样发现 C 组与 PA 组相距较远,而 CUR 组处在 C 组和 PA 组的中间,提示 CUR 对细胞代谢组的变化产生了有利的影响(图 3-C)。

经通路 MetPA 分析和代谢产物富集对血清中各组间差异化合物的具体分析发现,代谢差异主要集中在氨基酸代谢,其中氨基酸代谢差异主要体现在氨酰-tRNA 生物合成;丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢以及异亮氨酸的合成(图 4-A)。

同样对肝中各组间差异化合物的详细分析发现,代谢差异主要集中在氨基酸代谢和部分脂质代谢通路,如脂肪酸的 β 氧化,有研究^[14]表明 CUR 能够减少肝脏中脂酰辅酶 A 脱氢酶(脂肪酸 β 氧化的限速酶)的蓄积,说明 CUR 能够抑制脂肪酸的氧化;有氨酰-tRNA 生物合成;丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢;谷氨酰胺和谷氨酸代谢以及甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(图 4-B)。

对原代肝细胞各组间差异化合物的具体分析发现,代谢差异主要集中在氨基酸代谢。其中氨基酸代谢差异主要体现在氨酰-tRNA 生物合成;丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢以及精氨酸和脯氨酸的合成(图 4-C)。

进一步分析发现 HFD 小鼠血清中多种氨基酸的水平有明显升高(图 5-A、B、C),如丙氨酸、甘氨

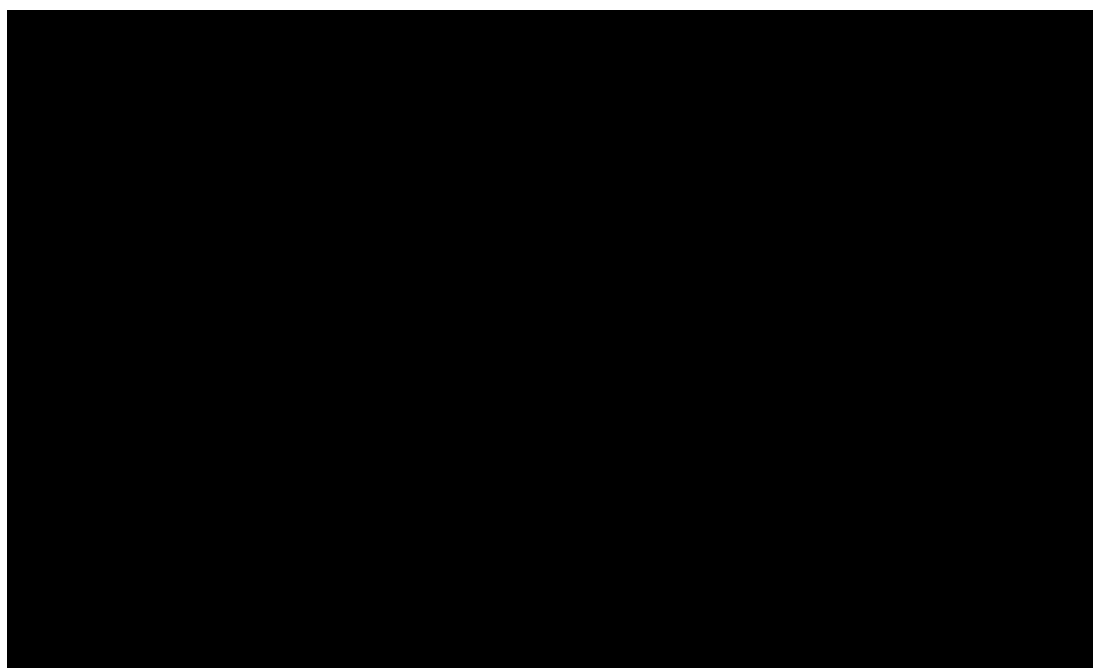


图 1 小鼠肝脏组织病理学检查

Fig. 1 Histopathological assessment of mice following 10 weeks of treatment

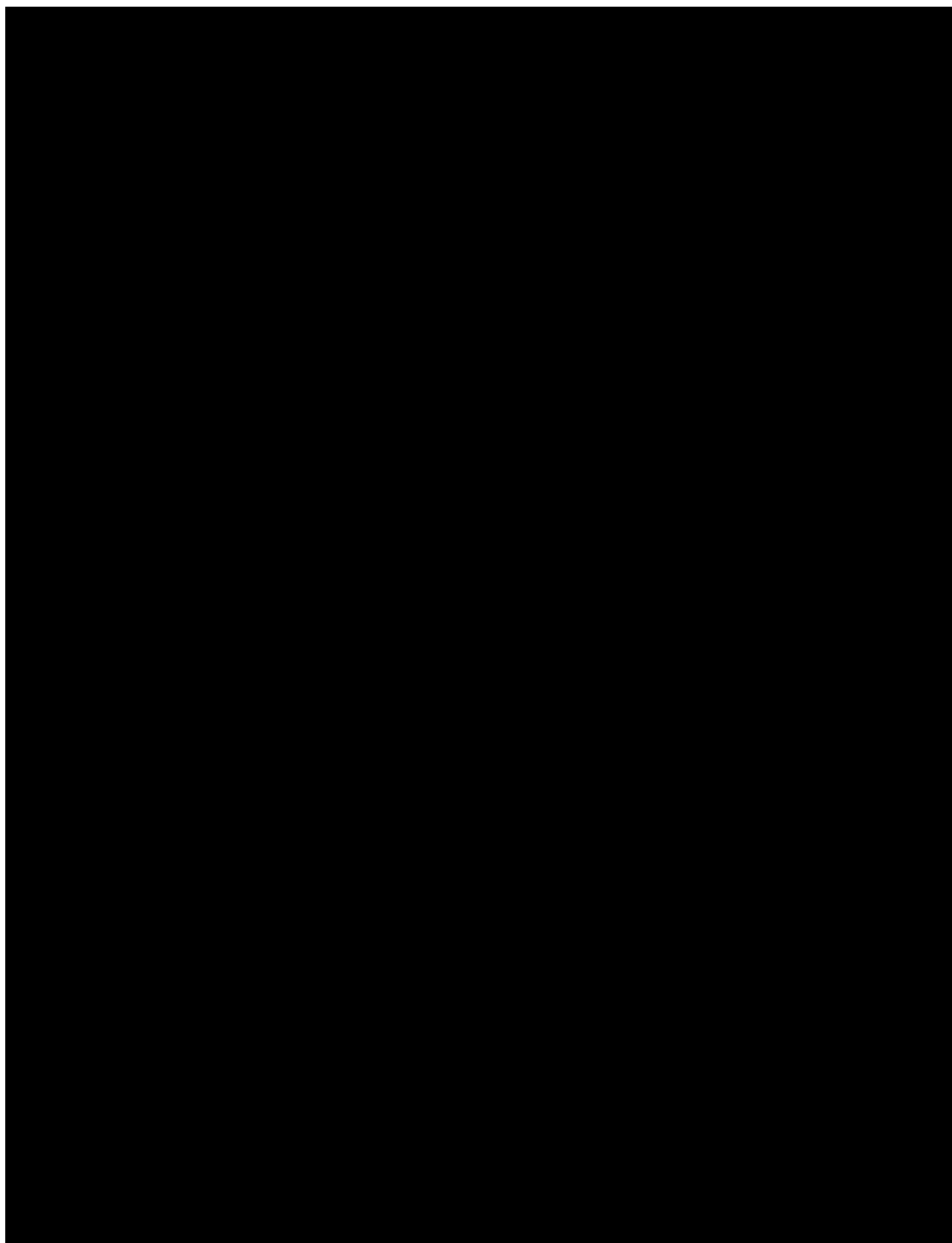


图2 血清(A)、肝脏(B)和细胞(C)GC/MS总离子流色谱图

Fig. 2 Typical GC-TOF/MS total ion chromatograms of mice plasma (A), liver (B), and cell (C)

A

B

C

图3 血清(A)、肝脏(B)和细胞(C)PLS-DA得分图和S-plot图

Fig. 3 PLS-DA score plots and 3D plots and S-plots of mice plasma (A), liver (B), and cell (C)

酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺以及脯氨酸等生糖、生酮氨基酸,而CUR能够明显降低高脂饮食所上升的氨基酸水平,提示CUR对高脂饮食小鼠的糖代谢紊乱有一定作用。同样肝中也有一致的变化(图5-D~H)。对细胞中代谢物进一步分析发现,经PA诱导后原代肝细胞中丙氨酸、天冬氨酸以及尼克酰胺的水平有下降趋势,而给予CUR能够升高这些氨基酸的水平(图5-I)。血清和肝脏中丙氨酸、天冬氨酸和尼克酰胺的变化趋势和体外实验相反可能是因为体内外代谢环境不一致造成的,体内的代谢变化是一个完整的代谢系统共同的作用结果,体外的代谢变化是直接作用的结果,一般更倾向于体内的代谢差异结果。

4 讨论

NAFLD患者常常伴有中心性肥胖、II型糖尿病以及高血脂、高血压等疾病,NAFLD被认为是代谢综合症在肝脏的一种病理表现^[18],因此了解NAFLD在三大代谢方面的异常对于防治NAFLD具有重要的临床意义。在研究中发现,很多生糖/生酮氨基酸水平发生了改变,这些生糖/生酮氨基酸可以通过代谢转化为葡萄糖或酮体(乙酰辅酶A或乙酰乙酸)进入三羧酸循环,使得三大代谢以三羧酸循环为枢纽实现彼此间的相互转化,从而构成一个完整的代谢体系^[19]。目前,这方面的研究主要集中在NAFLD的发生机制方面,以代谢组学为工具进行生物标志物的研究比较少见。有研究认为,胰岛

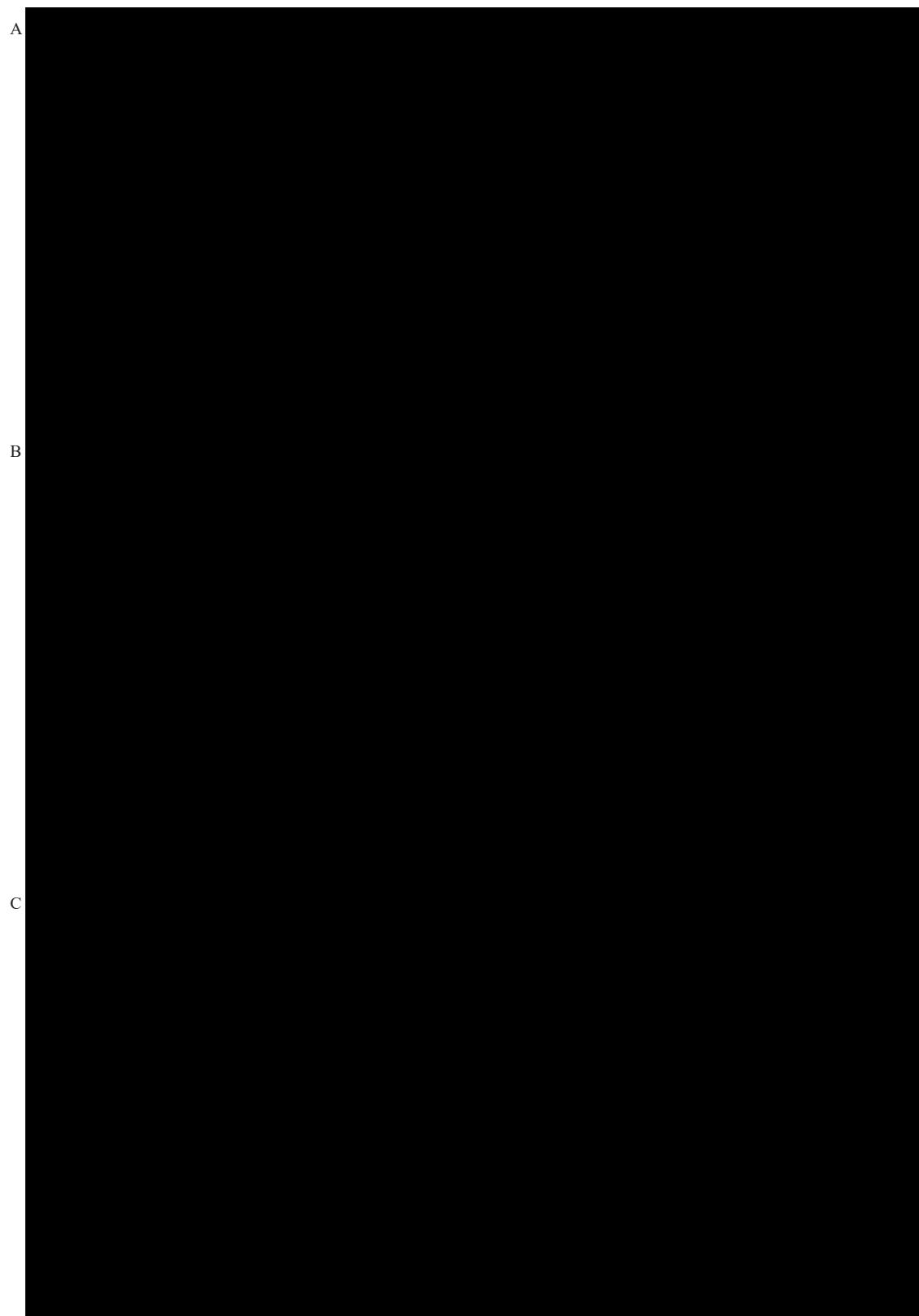


图4 血清(A)、肝脏(B)、细胞(C)样品的差异代谢通路图(左)和差异代谢产物富集图(右)

Fig. 4 Differential metabolic pathway maps (left) and differential metabolite enrichment maps (right) of serum (A), liver (B) and cell (C) samples

素抵抗与血清中的葡萄糖、脂肪酸和氨基酸代谢密切相关,认为在胰岛素抵抗时可有血清氨基酸水平

的升高,但大都局限于某一类氨基酸与糖尿病关系的研究^[20]。Krebs等^[21]通过人体一系列钳夹试验验证

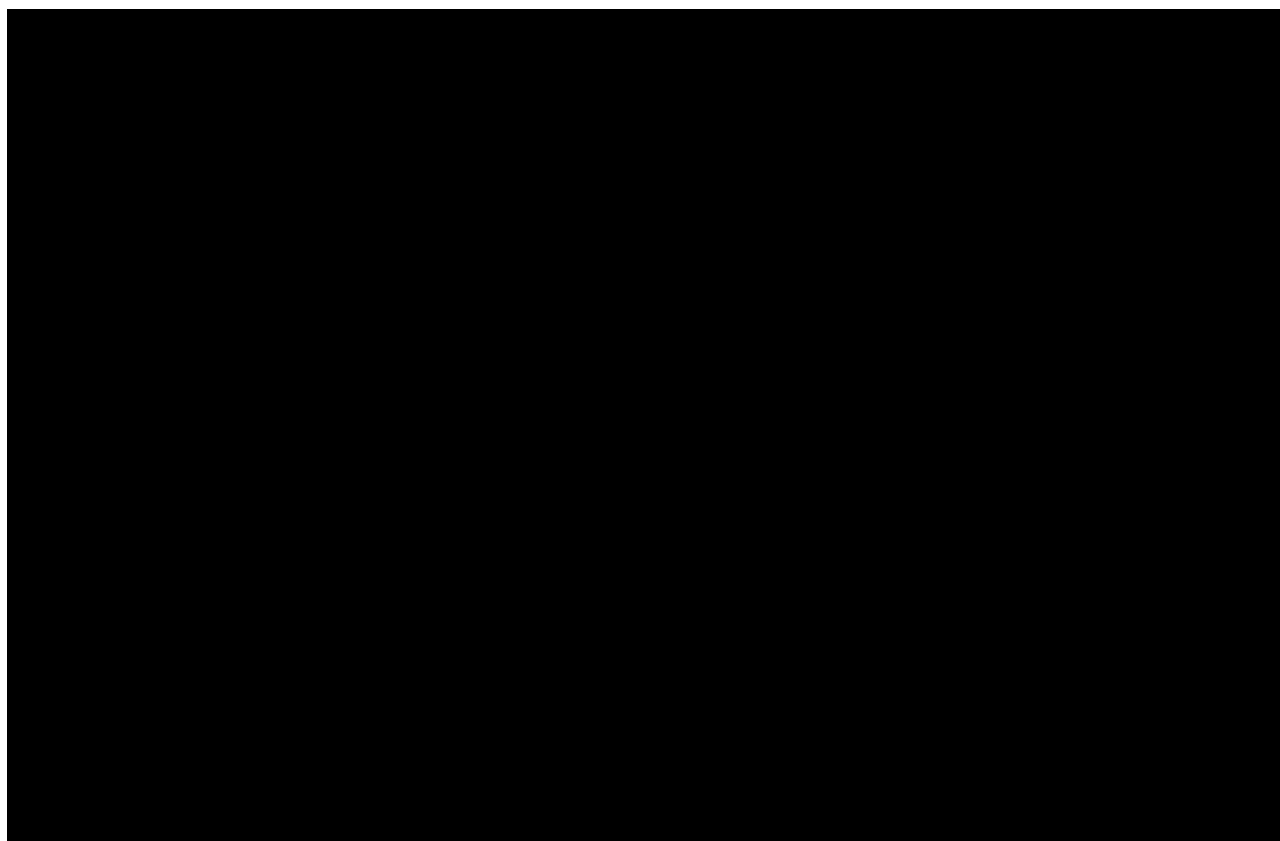


图5 血清(A~C)、肝脏(D~H)、细胞(I)差异代谢物的筛选

Fig. 5 Screening of Differential Metabolites in Serum (A~C), Liver (D~H) and Cell (I)

明,血浆氨基酸水平升高可以阻碍肌肉对葡萄糖的转运吸收,减少肌糖原合成,进而诱发肌肉组织出现胰岛素抵抗。此外,氨基酸还可以显著提高人体肝脏糖异生和糖原分解水平。

从图5-A、B中可以看出模型组小鼠中丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸、脯氨酸、苏氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸等14种氨基酸的水平均较C组升高,CUR的调节改善了这些代谢变化。支链氨基酸包括亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸,其中亮氨酸作为生糖兼生酮氨基酸,对糖类、脂肪和蛋白质3大代谢均有调控作用。有研究^[22]认为,亮氨酸可以调节胰岛素敏感性,机体缺乏亮氨酸会增加对胰岛素的敏感性,研究者认为这种效应是通过GCN2信号通路的激活和mTOR/S6K信号通路的下调来实现的,AMPK信号通路也参与了这一效应的调节。缬氨酸属生糖氨基酸,宋文其等^[23]的研究发现肥胖儿童体内的缬氨酸显著高于C组,且和FINS(空腹胰岛素)与HOMA-IR(胰岛素抵抗指数)呈正相关,认为可将缬氨酸等支链氨基酸作为胰岛素相关蛋白质代谢异常的敏感检测指标。

丙氨酸作为生糖氨基酸的一种,属于非必须氨

基酸,但早在1975年,有研究^[24]认为丙氨酸具有调节血糖的作用,用“葡萄糖-丙氨酸循环”说明丙氨酸是葡萄糖的前身,认为肝脏糖异生产生的葡萄糖中有25%~40%是由丙氨酸经糖异生而来。有研究^[25]认为,丙氨酸在组织间氨基酸的交换中发挥着重要作用,其在肌肉中合成,被肝脏摄取并转化为葡萄糖,谷氨酰胺循环通路表明肝脏在身体的代谢调控中起关键作用,丙氨酸和天冬氨酸转氨酶水平异常可能反映氨基酸在肝脏的代谢情况,认为丙氨酸代谢异常可能与肥胖、胰岛素抵抗、高血压和血脂异常等密切相关。另有研究发现,在非酒精性脂肪肝大鼠的血清中支链氨基酸和芳香族氨基酸都下降,瓜氨酸和鸟氨酸的浓度增加^[26];随后有学者通过实验比较正常人、NAFLD和NASH的患者粪便和血清氨基酸水平,发现NAFLD患者的血清中缬氨酸、丙氨酸、酪氨酸水平明显增高^[27]。本实验中,模型组中升高的氨基酸有14种,其中丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸、甘氨酸、脯氨酸、缬氨酸、天冬酰胺属于生糖氨基酸,亮氨酸和赖氨酸属于生酮氨基酸,苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸和苏氨酸属于生糖兼生酮氨基酸,综合前述的研究结果,说明NAFLD小鼠

不仅存在糖脂代谢异常,氨基酸代谢也存在异常,且氨基酸代谢的异常参与了NAFLD的发生与发展,这些氨基酸的异常水平可能可以作为NAFLD的标志物。由以上结果可知,模型组中氨基酸水平发生变化的主要为生糖和生酮氨基酸,所以猜测CUR对氨基酸代谢的调控很可能是通过对糖异生途径中氨基酸转变为葡萄糖这一过程的抑制而发挥作用。

NAFLD常伴随着脂代谢异常,有研究^[28-29]表明,CUR能够通过对脂肪合成基因的调节来降低血清中TG和胆固醇的水平。本实验中小鼠肝脏组织切片的结果表明CUR能够改善高脂饮食对肝脏造成的损伤。一项NAFLD的临床研究^[30]表明,服用非晶态固体分散CUR患者血清中TG、TC以及LDL-C的水平有所降低。但对CUR的降血脂作用在临床研究中有一定的争议性,一项纳入5项随机对照试验共计509名患者的Meta分析表明,CUR不具有降血脂的作用,其有关心血管疾病高危患者(糖尿病、肥胖和急性冠脉综合征)的亚组分析结果也没有统计学意义,并且该结果存在明显异质性^[28]。原因可能是该研究纳入文献数目有限、样本量较小并包含多种人群(阿尔兹海默症、急性冠脉综合征、糖尿病、肥胖和健康人群)。因此对CUR的降脂作用还需要进一步探讨。

参考文献

- [1] Than N N, Newsome P N. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Atherosclerosis*, 2015, 239(1): 192-202.
- [2] Neuschwander-Tetri B A, Caldwell S H. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference [J]. *Hepatology*, 2003, 37(5): 1202-1219.
- [3] Willebrords J, Pereira I V, Maes M, et al. Strategies, models and biomarkers in experimental non-alcoholic fatty liver disease research [J]. *Prog Lipid Res*, 2015, 59: 106-125.
- [4] Li Y R, Wang J, Tang Y H, et al. Bidirectional association between nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes in Chinese population: Evidence from the Dongfeng-Tongji cohort study [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (3): e0174291.
- [5] Mikolasevic I, Milic S, Turk Wensveen T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease - A multisystem disease ? [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(43): 9488-9505.
- [6] Kunnumakkara A B, Bordoloi D, Padmavathi G, et al. Curcumin, the golden nutraceutical: multitargeting for multiple chronic diseases [J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174 (11): 1325-1348.
- [7] 常明向, 吴梅梅, 李瀚旻. 姜黄素与甘草次酸联用对肝癌 HepG-2 细胞增殖的抑制作用 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(1): 42-47
- [8] 李 军, 熊 琨, 龚元, 等. 基于信号转导通路的姜黄素抗氧化机制研究进展 [J]. *中草药*, 2016, 47(13): 2373-2380.
- [9] Sahebkar A. Why it is necessary to translate curcumin into clinical practice for the prevention and treatment of metabolic syndrome ? [J]. *Biofactors*, 2013, 39(2): 197-208.
- [10] Rahmani S, Asgary S, Askari G, et al. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease with curcumin: a randomized placebo-controlled trial [J]. *Phytother Res*, 2016, 30(9): 1540-1548.
- [11] Fujiwara H, Hosokawa M, Zhou X R, et al. Curcumin inhibits glucose production in isolated mice hepatocytes [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2008, 80(2): 185-191.
- [12] Nicholson J K, Lindon J C. Systems biology: metabonomics [J]. *Nature*, 2008, 455(7216): 1054-1056.
- [13] Holmes E, Wilson I D, Nicholson J K. Metabolic phenotyping in health and disease [J]. *Cell*, 2008, 134(5): 714-717.
- [14] Fiehn O. Metabolomics-the link between geno-types and phenoty pes [J]. *Plant Mol Biol*, 2002, 48(1/2): 155-171.
- [15] 阿基业. 代谢组学数据处理方法: 主成分分析 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2010, 15(5): 481-489.
- [16] Wang Z X, Xu D, She L L, et al. Curcumin restrains hepatic glucose production by blocking cAMP / PKA signaling and reducing acetyl CoA accumulation in high-fat diet (HFD)-fed mice [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 474: 127-136.
- [17] He J, Gao H X, Yang N, et al. The aldose reductase inhibitor epalrestat exerts nephritic protection on diabetic nephropathy in db/db mice through metabolic modulation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40: 86-97.
- [18] Bugianesi E, McCullough A J, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease [J]. *Hepatology*, 2005, 42(5): 987-1000.
- [19] 查锡良. 生物化学第7版 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [20] Adeva M M, Calviño J, Souto G, et al. Insulin resistance and the metabolism of branched-chain amino acids in humans [J]. *Amino Acids*, 2012, 43(1): 171-181.
- [21] Krebs M, Krssak M, Bernroider E, et al. Mechanism of amino acid-induced skeletal muscle insulin resistance in humans [J]. *Diabetes*, 2002, 51(3): 599-605.

- [22] Xiao F, Huang Z Y, Li H K, et al. Leucine deprivation increases hepatic insulin sensitivity via GCN2 / mTOR / S6K1 and AMPK pathways [J]. Diabetes, 2011, 60(3): 746-756.
- [23] 宋文琪, 李时莲, 张美和, 等. 单纯性肥胖儿童血清氨基酸水平分析 [J]. 中国儿童保健杂志, 2011, 19(4): 324-327.
- [24] Felig P. Amino acid metabolism in man [J]. Annu Rev Biochem, 1975, 44: 905-952.
- [25] Sookoian S, Pirola C J. Alanine and aspartate aminotransferase and glutamine-cycling pathway: their roles in pathogenesis of metabolic syndrome [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(29): 3775-3781.
- [26] 叶春, 房宇. 非酒精性脂肪肝大鼠血清氨基酸谱的改变及分析 [J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2016, 39(1): 90-94.
- [27] 江向洋. 肠道菌群与NAFLD发生发展的关联代谢机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2017.
- [28] Sahebkar A. Curcuminoids for the management of hypertriglyceridaemia [J]. Nat Rev Cardiol, 2014, 11(2): 123.
- [29] Sahebkar A. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials investigating the effects of curcumin on blood lipid levels [J]. Clin Nutr, 2014, 33(3): 406-414.
- [30] Amin F, Islam N, Anila N, et al. Clinical efficacy of the co-administration of Turmeric and Black seeds (Kalongi) in metabolic syndrome - a double blind randomized controlled trial - TAK-MetS trial [J]. Complement Ther Med, 2015, 23(2): 165-174.