

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.17.013

实验研究

香砂六君子汤对脾虚高脂血症模型大鼠胆固醇逆向转运的影响

陈丝¹, 宋囡¹, 崔馨月¹, 陈宁¹, 王健¹, 曹媛¹, 高云飞¹, 张会永², 贾连群[✉]

(1. 辽宁中医药大学中医脏象理论及应用教育部重点实验室/重大科研平台, 辽宁省沈阳市崇山东路 79 号, 110847; 2. 辽宁中医药大学附属医院)

摘要 目的 探讨香砂六君子汤治疗脾虚高脂血症的可能作用机制。方法 将 40 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、高脂组、脾虚高脂组、香砂六君子汤正常剂量组及香砂六君子汤高剂量组, 每组 8 只。脾虚高脂组、香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组采用饮食不节加力竭游泳 15 天的复合方法建立脾虚模型, 除正常组外其余各组大鼠喂饲高脂饲料 14 周建立高脂血症模型。于第 10 周开始, 香砂六君子汤正常剂量组及香砂六君子汤高剂量组分别给予香砂六君子汤 5.67、11.34 g/(kg·d) 灌胃, 正常对照组、高脂组及脾虚高脂组给予相应体积的生理盐水灌胃。4 周后检测各组大鼠血清总胆固醇 (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)、磷脂转移蛋白 (PLTP)、卵磷脂胆固醇酯转移酶 (LCAT)、胆固醇酯转移蛋白 (CETP) 含量, 大鼠尿 D-木糖排泄率, 肝脏 PLTP、LCAT、CETP mRNA 表达, 采用 HE 染色观察肝脏细胞形态变化。结果 与正常对照组比较, 高脂组和脾虚高脂组大鼠血清 TC、TG、LDL-C、PLTP、CETP 含量及 PLTP、CETP mRNA 表达升高, HDL-C、LCAT 水平及 LCAT mRNA 表达降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), HE 染色显示肝脏细胞肿胀明显、脂肪空泡清晰可见。脾虚高脂组大鼠尿 D-木糖排泄率较正常对照组降低 ($P < 0.05$)。与高脂组相比, 脾虚高脂组大鼠血清 PLTP、CETP 含量升高, LCAT 含量降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与脾虚高脂组比较, 香砂六君子汤正常剂量组及香砂六君子汤高剂量组除 D-木糖排泄率外, 上述各指标均显著改善 ($P < 0.05$), 肝脏细胞肿胀明显减轻、脂肪空泡减少。香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组各指标差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 香砂六君子汤可减轻脾虚高脂血症肝脏细胞肿胀、空泡, 其机制可能与调控胆固醇逆向转运有关。

关键词 高脂血症; 脾虚; 香砂六君子汤; 胆固醇逆向转运

现代医学中的血脂与中医学中“膏脂”的意义颇为相似。《王氏医存》有云“肥人多痰, 肥人之病, 皆因脾湿所致”, 揭示脾虚与痰湿脂浊的形成密切相关^[1]。脾为后天之本, 主升清运化, 脾失健运, 则津液代谢异常、浊脂内生。课题组前期研究发现, 脾虚状态下机体脂质代谢紊乱程度加剧^[2]。基于上述病机, 课题组应用健脾降浊法作为调节脾虚高脂血症大鼠脂质代谢紊乱的主要治法。香砂六君子汤为益气健脾、温中化痰经典方

剂, 有研究^[3-5]发现, 香砂六君子汤在降血脂、抗氧化及抗炎症等方面疗效显著, 对动脉粥样硬化有明显的改善作用。胆固醇逆向转运 (reverse cholesterol transport, RCT) 是外周胆固醇在相关蛋白或分子的介导下, 经血液转运至肝脏并降解的过程^[6], 此过程是脂质代谢的主要途径之一, 对高脂血症的形成和发展有重要的调控作用。本实验通过观察香砂六君子汤对脾虚高脂血症大鼠血脂、尿 D-木糖排泄率、肝细胞形态学及胆固醇逆向转运相关基因变化的影响, 探讨香砂六君子汤对脾虚状态下脂质代谢紊乱的可能干预机制。

基金项目: 国家自然科学基金 (81774022, 81603513); 辽宁省高等学校创新团队支持计划 (LT2016012); 沈阳市高层次人才创新计划 (RC170248)

* 通讯作者: jllq-8@163.com, (024) 31207358

1 材料

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 40 只, 8 周龄, 体重 (190 ± 20) g, 由辽宁长生生物科技股份有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (辽) 2015-0001。饲养于辽宁中医药大学实验动物中心, 室内温度 18 ~ 22℃, 湿度 40% ~ 70%, 单笼饲养, 每天 12/12h 昼夜明暗交替。动物实验符合辽宁中医药大学实验动物伦理委员会标准, 实验动物伦理审查编号 21006092017056。

1.2 药物

香砂六君子汤由木香 6g、砂仁 3g、党参 12g、茯苓 12g、白术 12g、法半夏 6g、陈皮 6g、炙甘草 6g 组成, 以上中药饮片均购于辽宁中医药大学附属医院。药物浸泡 1h 后, 武火煮沸, 文火煮 20 min, 过滤, 重复煎 3 次, 合并滤液, 浓缩至含生药 0.57 g/ml 和 1.14 g/ml, 冷却后 4℃ 保存。

1.3 试剂及仪器

高脂饲料 (10% 猪油, 1% 胆固醇, 0.5% 胆酸钠, 0.2% 甲基硫氧嘧啶, 5% 蔗糖, 加 83.3% 普通饲料, 北京科澳协力饲料有限公司生产, 批号: 201708180); HE 染色试剂盒 (碧云天生物技术有限公司, 批号: C0105); D-木糖试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号: A035); Trizol (批号: CW0580)、SYBR Green Mater Mix 试剂盒 (批号: CW2582), 康为世纪生物科技有限公司; 4% 组织细胞固定液 (北京鼎国昌盛生物技术有限公司, 批号: AR-0211); 水合氯醛 (天津市大茂化学试剂厂, 批号: AR 302-17-0); 磷脂转移蛋白 (PLTP, 批号: ml059545)、卵磷脂胆固醇脂酰转移酶 (LCAT, 批号: ml520176)、胆固醇酯转移蛋白 (CETP, 批号: ml003189) 酶联免疫分析试剂盒, 上海酶联生物科技有限公司。

SHZ-88 型水浴恒温振荡器 (其林贝尔仪器制造有限公司); MULTISKAN FC 型酶标仪、ST16R 型冷冻高速离心机 (Thermo 公司); BioSpec-nano 型紫外可见分光光度计 (日本岛津公司); 7500 型实时定量 PCR 仪 (Applied Biosystems 公司); TAB-420FR 型全自动生化分析仪 (日本东芝公司); DM IL LED 普通型光学显微镜、ASP 6025 型全自动脱水机、RM2235 型手动石蜡切片机、EG 1150H 型包埋机、HI1220 型烘片机, 均购自 Leica 公司。

2 方法

2.1 造模、分组及干预方法

40 只 SD 大鼠普通饲料适应性喂养 1 周后, 按体重采用随机数字表法分为正常对照组、高脂组、脾虚高脂组、香砂六君子汤正常剂量组及香砂六君子汤高剂量组, 每组 8 只。脾虚高脂组、香砂六君子汤正常剂量组及香砂六君子汤高剂量组大鼠采用饮食不节加力竭游泳的复合方法造脾虚模型^[7-8]: 饱食 1 天, 禁食 2 天, 饮水不限。同时, 每日将大鼠于 35 ~ 37℃ 水中游泳至力竭, 连续造模 15 天。正常对照组喂饲基础饲料, 其余各组喂饲高脂饲料 14 周建立高脂血症模型^[8], 自由摄食, 饮水不限。于第 10 周灌胃给药, 按人和动物体表面积折算系数换算^[11], 香砂六君子汤正常剂量组 (人体临床等效剂量) 及香砂六君子汤高剂量组分别给予香砂六君子汤 5.67、11.34 g/(kg · d) 灌胃, 正常对照组、高脂组及脾虚高脂组给予等体积的生理盐水灌胃, 4 周后取材。

2.2 观察指标及方法

2.2.1 血脂 取材前禁食不禁水 12h, 10% 水合氯醛 3 ml/kg 麻醉后, 腹主动脉取血, 采用全自动生物化学分析仪检测血清总胆固醇 (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) 含量。

2.2.2 血清中 PLTP、LCAT、CETP 含量 采用 ELISA 法检测, 4℃、3000 r/min 离心 30 min 取血清 (离心半径 10 cm), 按 ELISA 试剂盒说明书步骤检测, 酶标仪 450 nm 波长测各孔 OD 值。

2.2.3 D-木糖排泄率 每只大鼠灌胃 5% D-木糖 5 ml, 禁食不禁水, 5h 后收集尿液并记录尿量, 取 5 μl 尿液与 45 μl 双蒸水稀释, 按 D-木糖试剂盒说明书操作, 用分光光度计测各管吸光度, 并计算其对应 D-木糖排泄率^[11], 即 5h 尿中排出木糖/灌胃木糖量 × 100%。

2.2.4 肝脏组织病理形态 将肝脏置于 4% 组织细胞固定液 24h 以上, 梯度脱水、包埋、石蜡切片 (片厚为 5 μm), 放于蒸馏水中 2 min 后, HE 染液染色 5 min, 浸于自来水中洗涤 10 min, 再用蒸馏水洗涤 1 次, 95% 乙醇脱水 2 min 重复洗两次, 二甲苯透明 5 min 重复洗 2 次, 中性树胶封片, 用光学显微镜观察。

2.2.5 肝脏 PLTP、LCAT、CETP mRNA 表达 每组采用随机数字表法选取 3 只大鼠采用 RT-PCR 法

检测,用引物 Premier 5.0 软件设计 PCR 引物,由武汉金开瑞生物工程有限公司合成。PLTP: 上游 5'-GCTTGTACACAGGCTCCGTACT-3', 下游 5'-GCTCCACCGCTTTGTTGAGA-3', 扩增片段 990bp; LCAT: 上游 5'-GCAGTAGGCACTGGGCTGTA-3', 下游 5'-ACCCCGAGGGGTAGAAACAT-3', 扩增片段 307bp; CETP: 上游 5'-CTTGTCCATCGCCAC-CAGCC-3', 下游 5'-AGGGAGTGGAAGACTT-GCTCGGA-3', 扩增片段 144bp; GAPDH: 上游 5'-CACGGCATTGTCACCAACTG-3', 下游 5'-AACA-CAGCCTGGATGGCTAC-3', 扩增片段 203bp。Trizol 裂解肝脏组织,提取总 RNA,逆转录成 cDNA 后扩增,用 SYBR Green Mater Mix 试剂检测待测基因的 mRNA 水平,重复 3 次。结果用 $\Delta\Delta CT$ 法对 RT-PCR 结果进行相对定量分析。 ΔCT 值为目的基因 CT 值与内参基因 (GAPDH) CT 值的差值, $\Delta\Delta CT$ 为各实验组 ΔCT 与空白对照组 ΔCT 的差值。平均相对含量 = $2^{-\Delta\Delta CT}$, 为相对于正常对照组 mRNA 的水平。

2.3 统计学方法

应用 SPSS 16.0 统计软件分析,计量资料以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Tukey's 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠血脂及 D-木糖排泄率比较

表 1 示,与正常对照组比较,高脂组和脾虚高

脂组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平显著升高, HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 脾虚高脂组大鼠尿 D-木糖排泄率显著低于正常对照组 ($P < 0.01$), 而高脂组 D-木糖排泄率与正常对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与高脂组比较,香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组 LDL-C 明显降低, HDL-C、D-木糖排泄率明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与脾虚高脂组比较,香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组 TC、TG、LDL-C 明显降低, HDL-C 明显升高 ($P < 0.01$), 而 D-木糖排泄率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组各指标差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3.2 各组大鼠肝脏组织病理形态学结果比较

正常对照组肝细胞核圆且居中,细胞索结构清晰,肝窦正常;与正常对照组比较,高脂组和脾虚高脂组肝细胞肿大变圆,空泡化明显,肝细胞形态疏松,部分细胞核挤向胞膜,就空泡密度而言,脾虚高脂组大鼠肝脏组织泡沫化更为严重;香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组大鼠肝细胞脂肪空泡显著减少,肝细胞肿胀减轻,细胞排列整齐清晰,胞核正常,两组间差异不明显,见图 1。

3.3 各组大鼠血清 PLTP、LCAT、CETP 含量变化

表 2 示,与正常对照组比较,高脂组和脾虚高脂组大鼠血清 PLTP、CETP 含量显著升高 ($P < 0.01$), 脾虚高脂组血清 LCAT 含量低于正常对照

表 1 各组大鼠血脂水平及 D-木糖排泄率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	D-木糖排泄率 (%)
正常对照组	8	1.37 $\pm$ 0.20	0.49 $\pm$ 0.06	0.53 $\pm$ 0.17	1.15 $\pm$ 0.11	29.47 $\pm$ 2.06
高脂组	8	1.65 $\pm$ 0.24*	0.65 $\pm$ 0.07**	0.92 $\pm$ 0.35**	0.85 $\pm$ 0.14**	25.94 $\pm$ 2.62
脾虚高脂组	8	1.79 $\pm$ 0.21**	0.73 $\pm$ 0.07**	1.14 $\pm$ 0.27**	0.73 $\pm$ 0.11**	20.81 $\pm$ 2.57**
香砂六君子汤正常剂量组	8	1.42 $\pm$ 0.11 Δ	0.56 $\pm$ 0.11 Δ	0.55 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$	1.13 $\pm$ 0.15 $\Delta\Delta$	26.85 $\pm$ 5.67 Δ
香砂六君子汤高剂量组	8	1.41 $\pm$ 0.16 Δ	0.54 $\pm$ 0.07 Δ	0.57 $\pm$ 0.19 $\Delta\Delta$	1.14 $\pm$ 0.18 $\Delta\Delta$	27.48 $\pm$ 5.36 Δ

注: TC, 总胆固醇; TG, 甘油三酯; LDL-C, 低密度脂蛋白胆固醇; HDL-C, 高密度脂蛋白胆固醇; 与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与高脂组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与脾虚高脂组比较, $\Delta P < 0.01$

表 2 各组大鼠血清 PLTP、CETP、LCAT 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PLTP (ng/ml)	LCAT (μ mol/L)	CETP (ng/ml)
正常对照组	8	70.75 $\pm$ 13.25	41.10 $\pm$ 3.52	112.03 $\pm$ 17.90
高脂组	8	98.00 $\pm$ 13.96*	35.42 $\pm$ 5.29	289.07 $\pm$ 33.77*
脾虚高脂组	8	120.87 $\pm$ 24.23* Δ	27.55 $\pm$ 4.24* Δ	378.75 $\pm$ 42.95* Δ
香砂六君子汤正常剂量组	8	88.48 $\pm$ 11.12 Δ	40.64 $\pm$ 7.41 Δ	232.38 $\pm$ 107.08 Δ
香砂六君子汤高剂量组	8	79.67 $\pm$ 6.22 Δ	39.27 $\pm$ 3.54 Δ	201.35 $\pm$ 52.74 Δ

注: PLTP, 磷脂转移蛋白; LCAT, 卵磷脂胆固醇脂酰转移酶; CETP, 胆固醇酯蛋白; 与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与高脂组比较, $\Delta P < 0.05$; 与脾虚高脂组比较, $\Delta P < 0.01$

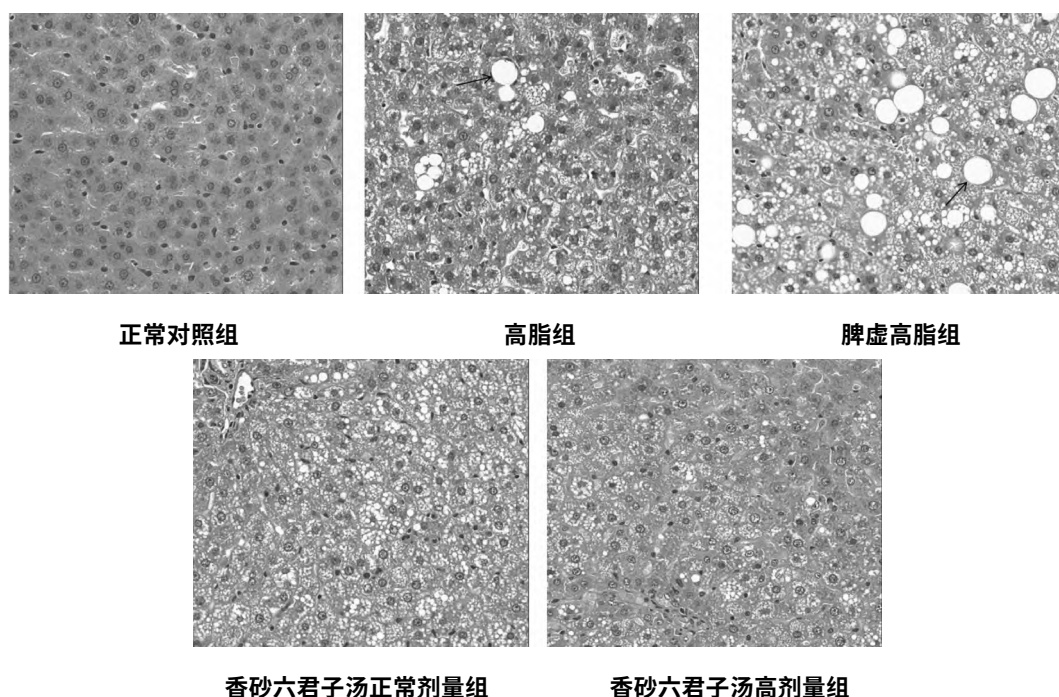


图 1 各组大鼠肝脏组织 HE 染色结果比较 (×200)

表 3 各组大鼠肝脏 PLTP、LCAT、CETP mRNA 水平比较 ($2^{-\Delta\Delta CT}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PLTP	LCAT	CETP
正常对照组	3	1	1	1
高脂组	3	$2.15 \pm 0.18^*$	$0.79 \pm 0.05^*$	$1.82 \pm 0.21^*$
脾虚高脂组	3	$1.82 \pm 0.06^{*\Delta}$	$0.66 \pm 0.05^*$	$2.16 \pm 0.12^*$
香砂六君子汤正常剂量组	3	$1.33 \pm 0.17^{\Delta\Delta\Delta}$	$0.85 \pm 0.06^{\Delta}$	$1.37 \pm 0.22^{\Delta}$
香砂六君子汤高剂量组	3	$1.22 \pm 0.11^{\Delta\Delta\Delta}$	$0.90 \pm 0.08^{\Delta}$	$1.20 \pm 0.21^{\Delta\Delta\Delta}$

注: PLTP, 磷脂转移蛋白; LCAT, 卵磷脂胆固醇脂酰转移酶; CETP, 胆固醇酯转蛋白; 与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与高脂组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与脾虚高脂组比较, $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$

组 ($P < 0.01$), 而高脂组血清 LCAT 含量与正常对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与高脂组比较, 脾虚高脂组大鼠血清 PLTP、CETP 含量明显升高, 血清 LCAT 含量明显降低 ($P < 0.05$)。与脾虚高脂组比较, 香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组大鼠血清 PLTP、CETP 含量显著降低, LCAT 含量显著升高 ($P < 0.05$)。而香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组各指标差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3.4 各组大鼠肝脏 PLTP、CETP、LCAT mRNA 表达比较

表 3 示, 与正常对照组比较, 高脂组和脾虚高脂组大鼠肝脏 PLTP、CETP mRNA 水平显著升高, LCAT mRNA 水平显著降低 ($P < 0.01$); 与高脂组比较, 脾虚高脂组、香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组大鼠肝脏 PLTP mRNA 水平下降, 香砂六君子汤高剂量组大鼠肝脏 CETP mRNA 水平降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与脾虚高脂组

比较, 香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组大鼠 PLTP、CETP mRNA 水平降低, LCAT mRNA 水平升高 ($P < 0.01$)。而香砂六君子汤正常剂量组和香砂六君子汤高剂量组各指标差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

4 讨论

高脂血症是由多种因素引起的脂质代谢性疾病, 与心脑血管疾病的发生发展密切相关^[12]。根据其病变特点将其归于中医学“痰浊”“脂浊”等范畴, 多为脾肾不足、瘀血痰浊日久, 而致清浊不分、湿浊痰凝瘀血积聚而形成的本虚标实之证^[13]。王智玉^[14]研究发现, 痰湿、气虚体质与高脂血症发病率呈正相关。痰湿体质多由脾虚失运或过食肥甘厚味而致水液内停、聚而生痰, 痰滞日久则阻滞气机, 浊脂内生。气虚体质之人多由先天后天之气生化无源或消耗过多引发, 气虚、痰湿的形成过程皆与脾虚密切相关。课题组选用具有益气健脾、行气化痰的香砂六君子汤加以治疗, 方中党参、白

术、茯苓、炙甘草健脾益气渗湿，陈皮、半夏行气燥湿化痰，木香、砂仁相使而用，加强行气止痛化湿、燥湿健脾和胃的功效，使痰浊得化、气虚得补。

RCT 是机体维持脂质代谢平衡的主要途径，肝脏作为参与 RCT 的重要器官，可将胆固醇转化为胆汁酸并排出体外，维持机体正常脂质代谢过程^[13]。胆固醇外流是 RCT 起始阶段^[14]。首先，ATP 结合盒转运体 A1 (ABCA1) 可介导细胞内磷脂流出，而后与载脂蛋白 A1 (ApoA1) 结合形成磷脂-ApoA1 复合物，该复合物可捕获细胞内通过扩散作用流出胆固醇，进而形成前 β 高密度脂蛋白 (pre- β -HDL)，在 LCAT 的作用下，将其转变为富含胆固醇酯的球状、成熟的高密度脂蛋白 (HDL)，进而促进 HDL 携带外周组织中过多的胆固醇随血液系统转运至肝脏^[15]。而 PLTP 可催化磷脂由其他脂蛋白转运至 HDL，同时还可促进 HDL 介导的周围细胞内胆固醇及磷脂流出^[16]。CETP 可将部分胆固醇酯由 HDL 转移至低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、中密度脂蛋白 (IDL)，再经肝脏表面 LDL 受体识别并降解。同时，HDL 所含的剩余胆固醇酯可被肝脏表面 B 族 I 型清道夫受体 (SR-B1) 识别进而降解，继而实现胆固醇的水解及清除^[19-20]。当外源性胆固醇摄入过多，可通过上调 CETP 和 PLTP 表达水平，代谢过量的胆固醇，维持机体脂质代谢平衡。上调 CETP 表达可加快胆固醇酯转运速率，使大量胆固醇酯转运至肝脏，加速 RCT 进程^[21]。高水平表达的 PLTP 可促进 β -HDL 前体生成并提高肝脏摄取 HDL 能力，使 HDL 所携带的胆固醇酯更易被肝脏表面受体识别，进而加快胆固醇代谢速率^[22]。而 LCAT 低表达时将阻碍游离胆固醇转化为失去极性的胆固醇酯，使经 HDL 转运至肝脏的胆固醇酯数量减少，继而加重外周游离胆固醇的蓄积^[23]。

本研究发现，高脂喂饲可使大鼠血脂升高，肝细胞泡沫化明显。脾虚状态下，大鼠尿 D-木糖排泄率显著降低，大鼠血脂水平进一步升高，肝细胞泡沫化显著加重，说明脾虚可进一步加重高脂喂饲大鼠脂质代谢的紊乱程度。给予香砂六君子汤干预后，大鼠血脂水平降低，说明香砂六君子汤可纠正脾虚症状及改善血脂紊乱，虽然香砂六君子汤正常剂量和高剂量之间差异无统计学意义，但是从变化趋势仍可以看出香砂六君子汤高剂量作用可能更优。我们进一步探讨其机制发现，脾虚高脂组大鼠肝脏 PLTP、CETP mRNA 表达及血清中含量显著升

高，可加速磷脂、胆固醇和胆固醇酯等物质转运至 HDL 及 LDL，再经肝脏上的受体识别转运至肝脏，进而加快胆固醇代谢。而 LCAT mRNA 肝脏表达及血清中含量显著降低，可影响 HDL 成熟代谢过程，阻碍 RCT 进程，加重外周高胆固醇状态。经香砂六君子汤干预后，PLTP、CETP、LCAT mRNA 表达及血清中含量显著改善，说明香砂六君子汤可能通过调控 RCT 相关基因及蛋白表达继而改善血脂水平。

综上，脾虚状态可加重高脂血症大鼠脂质紊乱程度，香砂六君子汤可使脂质紊乱得以恢复、肝脏脂质沉积情况相对改善，其机制可能与调控 RCT 的 PLTP、LCAT、CETP 的表达密切相关，但其具体机制有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 李维娜,冯玲. 高脂血症从脾论治探幽 [J]. 世界中西医结合杂志,2017,12(4):577-580.
- [2] 朱美林. 脾虚状态对高脂血症大鼠肝脏脂质沉积的影响及机制研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学,2016.
- [3] 王莹,贾连群,宋囡,等. 香砂六君子丸对脾虚痰浊大鼠小肠组织 cAMP/PKA 信号通路的影响 [J]. 辽宁中医杂志,2015,42(8):1553-1555.
- [4] 叶红梅,肖柳英,林妮. 香砂六君子丸对高脂模型大鼠抗氧化作用的研究 [J]. 中国药房,2008,19(24):1862-1863.
- [5] 赵洪磊,付志敏,王丽丽. 从脾论治动脉粥样硬化的临床研究 [J]. 中国实用医药,2016,11(33):42-44.
- [6] 莫中成,唐朝克. 胆固醇逆向转运关键蛋白介导药物和小分子调控脂代谢的机制研究 [J]. 中国动脉硬化杂志,2018,26(4):325-328.
- [7] 郑小伟. 中医实验动物模型方法学 [M]. 上海: 上海中医药大学出版社,1999:63-111.
- [8] 姜晓琳,张立德. 脾气虚证模型大鼠中 BNP 介导的 cAMP-PKA 信号通路对 bFGF 表达的影响 [J]. 中国病理生理杂志,2016,32(2):251-255.
- [9] 王继峰,李峨,李贡宇,等. 大豆总黄酮对实验性大鼠高脂血症及脂肪肝的治疗作用 [J]. 中国医药学报,2001,16(1):23-27.
- [10] 陈奇. 中药药理实验方法 [M]. 北京: 人民卫生出版社,1996:1103.
- [11] 呼延和. 开郁健脾法对脾虚大鼠血清胃泌素、尿 D-木糖影响的实验研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学,2010.
- [12] 王林海,卢健棋,黄舒培,等. 中医药治疗血脂异常的研究进展 [J]. 中华中医药学刊,2018,36(1):106-109.
- [13] 刘丽娜. 高脂血症中医治疗及研究进展 [J]. 时珍国医国药,2005,16(2):159-160.
- [14] 王智玉. 浅析高脂血症与中医体质的相关性 [J]. 世界

中西医结合杂志, 2012, 7(7): 604-606.

- [5] 何芷慧, 江巍, 李松. 胆固醇逆向转运的研究进展及中医药干预 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(11): 1570-1574.
- [6] 肖继, 廖端方, 唐朝克. 胆固醇逆向转运与动脉粥样硬化的转基因动物研究进展 [J]. 岭南心血管病杂志, 2010, 16(1): 58-62.
- [7] 冯淑芝, 陈璐, 曹肇慧. 高密度脂蛋白与动脉粥样硬化关系的研究进展 [J]. 国外医学(老年医学分册), 2009, 30(2): 70-73.
- [8] 滕志朋, 王晨, 张雄, 等. 姜黄素对 APP/PS1 双转基因鼠海马 ABCA1、apoA1 的表达和血清 TC、HDL 含量的影响 [J]. 重庆医科大学学报, 2014, 39(2): 146-149.
- [9] 徐文静. 胆固醇逆向转运和动脉粥样硬化 [J]. 现代医

学与健康研究电子杂志, 2018, 2(9): 195-198.

- [20] 王甲林, 唐艳艳, 吴洁, 等. 胆汁途径与非胆汁途径胆固醇逆向转运研究新进展 [J]. 生理科学进展, 2013, 44(2): 26-31.
- [21] 赵敏, 徐安莉, 陈会敏, 等. LXR α 靶基因对肾阳虚实验大鼠血脂中胆固醇的调控机制研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(5): 1264-1267.
- [22] LEE-RUECKERT M, VIKSTEDT R, METSO J. Absence of endogenous phospholipid transfer protein impairs ABCA1-dependent efflux of cholesterol from macrophage foam cells. [J]. J Lipid Res, 2006, 47(8): 1725-1732.
- [23] 孙屏, 范乐明. 高密度脂蛋白的代谢相关基因表达产物与动脉粥样硬化 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(6): 543-546.

Effect of *Xiangsha Liujunzi Decoction* (香砂六君子汤) on Reverse Cholesterol Transport of Spleen Deficiency and Hyperlipidemia Model Rats

CHEN Si¹, SONG Nan¹, CUI Xinyue¹, CHEN Ning¹, WANG Jian¹, CAO Yuan¹, GAO Yunfei¹, ZHANG Huiyong², JIA Lianqun¹

(1. Key Laboratory of Visceral Manifestations Theory and Application of Ministry of Education/Major Research Platform, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847; 2. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Xiangsha Liujunzi Decoction* (香砂六君子汤) in treating spleen deficiency and hyperlipidemia. **Methods** A total of 40 SD rats were randomly divided into a normal control group, a high fat group, a spleen deficiency and high fat group, a *Xiangsha Liujunzi Decoction* normal dose group and *Xiangsha Liujunzi Decoction* high dose group, with 8 rats in each group. The spleen deficiency and high fat group, the *Xiangsha Liujunzi Decoction* normal dose group and the *Xiangsha Liujunzi Decoction* high dose group established a spleen deficiency model by combination of excessive diet and exhaustive swimming for 15 days. Except for the normal group, the rats were fed with high-fat diet for 14 weeks to establish hyperlipidemia model. Beginning at the 10th week, the *Xiangsha Liujunzi Decoction* normal dose group and high dose group were respectively given 5.67, 11.34 g/(kg · d) of *Xiangsha Liujunzi Decoction*. The normal control group, the high fat group and the spleen deficiency and high fat group were given a corresponding volume of normal saline by gavage. After 4 weeks, serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and phospholipid transfer protein (PLTP), lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT), cholesterol ester transfer protein (CETP) content, rat D-xylose excretion rate, liver PLTP, LCAT, CETP mRNA expression were measured in each group. HE staining was used to observe liver cell morphology changes. **Results** Compared with the normal control group, the levels of serum TC, TG, LDL-C, PLTP, CETP, PLTP and CETP mRNA were increased, and the levels of HDL-C, LCAT and LCAT mRNA were decreased in the high-fat group and the spleen deficiency and high fat group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). HE staining showed that the liver cells were obviously swollen and the fat vacuoles were clearly visible. The urinary D-xylose excretion rate in the spleen deficiency and high fat group was lower than that in the normal control group ($P < 0.05$). Compared with the high fat group, the serum levels of PLTP and CETP increased and the LCAT content decreased in the spleen deficiency and high fat group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the spleen deficiency and high fat group, except for the D-xylose excretion rate of the *Xiangsha Liujunzi Decoction* normal dose group and the high dose group, all the above indexes were significantly improved ($P < 0.05$). Liver cell swelling was significantly alleviated, and fat vacuoles were reduced. There were no significant differences in the indexes between the *Xiangsha Liujunzi Decoction* normal dose group and the high dose group ($P > 0.05$). **Conclusion** *Xiangsha Liujunzi Decoction* can alleviate the swelling and vacuolization of liver cells in spleen deficiency and hyperlipidemia. The mechanism may be related to the regulation of cholesterol reverse transport. **Keywords** hyperlipidemia; spleen deficiency; *Xiangsha Liujunzi Decoction* (香砂六君子汤); cholesterol reverse transport

(收稿日期: 2019-01-12; 修回日期: 2019-04-25)

编辑: 邓 媛