

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2023.22.014

电针“丰隆”穴对高脂血症模型大鼠肝脏脂质合成和胰岛素抵抗的影响

金舒文¹, 刘嘉宝¹, 李丹¹, 刘曼琦¹, 张茜¹, 潘小丽[✉], 张红星^{1,2}

1. 湖北中医药大学针灸骨伤学院, 湖北省武汉市武昌区昙华林特1号, 430061; 2. 江汉大学医学部

[摘要] **目的** 从肝脏脂质合成和胰岛素抵抗探讨电针丰隆穴治疗高脂血症的可能机制。**方法** 将18只大鼠随机分为空白组、模型组、电针组, 每组6只。模型组和电针组大鼠予以高脂饲料喂养8周制备高脂血症模型。造模后电针组大鼠进行双侧“丰隆”穴电针治疗, 模型组大鼠每日捆绑处理, 每天1次, 每周连续5天, 共4周。空白组不予以特殊处理。干预后采用ELISA法检测各组大鼠肝组织甘油三酯(TG)、游离脂肪酸(FFA)含量; 检测空腹血糖(FBG)及血清TG、FFA、空腹胰岛素(FINS)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)含量, 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。HE染色和油红O染色观察肝脏病理情况。免疫荧光法检测肝脏固醇调节元结合蛋白1c(SREBP1c)、脂肪酸合酶(FASN)和硬脂酰辅酶A去饱和酶1(SCD1)的表达情况。Western blot法检测肝脏胰岛素受体底物1(IRS1)和酪氨酸磷酸化胰岛素受体底物1(p-IRS1-Tyr)蛋白表达水平。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠血清和肝组织TG、FFA含量, 血清AST、ALT和TNF- α 、IL-6含量, FBG、FINS和HOMA-IR升高($P<0.05$); HE染色可见肝细胞排列紊乱, 呈广泛脂肪样变, 油红O染色可见肝细胞质内大量鲜红色脂滴, 脂质蓄积严重; 肝组织SREBP1c、FASN、SCD1平均荧光强度显著上升($P<0.05$); p-IRS1-Tyr蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。与模型组比较, 电针组大鼠血清和肝组织TG、FFA含量显著降低, 血清AST、ALT和TNF- α 、IL-6含量明显下降, FBG、FINS和HOMA-IR降低($P<0.05$); HE染色可见肝细胞排列较规则, 油红O染色可见肝细胞脂滴显著减少, 脂质蓄积程度减轻; 肝组织SREBP1c、FASN、SCD1平均荧光强度显著下降($P<0.05$); p-IRS1-Tyr蛋白表达水平平均显著升高($P<0.05$)。**结论** 电针“丰隆”穴可显著降低高脂血症模型大鼠血脂水平, 改善肝脏脂肪堆积, 提高胰岛素敏感性, 其机制可能与抑制相关肝脏脂质合成分子表达、降低血清炎症因子、升高胰岛素底物受体磷酸化水平有关。

[关键词] 高脂血症; 电针; 丰隆; 血脂; 血糖; 胰岛素抵抗; 炎症因子

高脂血症(hyperlipidemia, HLP)是指以血液总胆固醇(TC)和(或)甘油三酯(TG)升高, 和(或)高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)降低等血脂水平异常为特征的慢性疾病^[1]。高脂饮食引起的高脂血症常伴肝脏脂肪浸润和胰岛素敏感性降低, 引起全身糖脂代谢紊乱, 从而诱导代谢性疾病如脂肪肝、糖尿病的发生, 甚至可能增加肝硬化的风险^[2]。研究发现, 在未发生心血管事件的高脂血症患者中普遍

存在不同程度的糖耐量异常^[3-5]。其中胰岛素抵抗是糖脂代谢紊乱的关键环节^[6]。机制研究证实, 肝脂肪酸累积通过慢性炎症、氧化应激、线粒体自噬等途径引起或加重肝胰岛素抵抗, 抑制肝脂肪酸堆积可有效提高肝胰岛素敏感性^[7]。因此, 针对高脂血症伴肝脂质沉积过多患者的治疗策略, 除降血脂以外, 还要减轻肝脏脂质堆积、改善肝胰岛素抵抗, 从而预防代谢性疾病的发生与进展。

电针疗法是一种临床治疗HLP的有效手段, 疗效显著且具有稳定性^[8]。本课题组既往研究证实, 电针丰隆穴可通过减少肝脏胆固醇合成和增加

基金项目: 国家自然科学基金(82274663); 湖北省教育厅科学研究计划(Q20212008)

✉ 通讯作者: pxlzhenjiu@163.com

胆固醇排泄途径发挥降脂作用^[9-10]。本研究观察电针对 HLP 模型大鼠肝脏 TG、脂肪酸 (FA) 合成和胰岛素敏感性的影响,初步探究电针丰隆穴治疗高脂血症的可能作用机制。本实验经湖北中医药大学动物伦理委员会批准,伦理审批号:hucms202204027。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 18 只,体质量 110~120 g,由湖北省疾控中心提供,实验动物生产许可证号:SYKK(鄂)2020-0018,饲养于湖北中医药大学 SPF 级实验动物房。动物房温度 22~25 °C,相对湿度 50%~60%,明暗周期 12 h/12 h。

1.2 主要仪器和试剂

基础饲料(货号 42000300007198)、高脂饲料(配方:77% 基础饲料,10% 猪油,10% 蛋黄粉,2% 胆固醇和 1% 胆酸钠,货号 42000300008183),武汉春玉红实验动物饲料有限公司;固醇调节元结合蛋白 1c (SREBP1c) 多克隆兔抗(Affinity 公司,货号 AF6283);脂肪酸合酶(FASN)多克隆兔抗(货号 10624-2-AP)、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶(SCD1)多克隆兔抗(货号 28678-1-AP)、胰岛素受体底物 1 (IRS1) 抗体(货号 17509-1-AP)、GAPDH 抗体(货号 60004-1-Ig),Proteintech 公司;酪氨酸磷酸化胰岛素底物受体 1 (p-IRS1-Tyr) 抗体(ThermoFisher 公司,货号 44-816G);TG 试剂盒(货号 BC0625)、游离脂肪酸(FFA)试剂盒(货号 BC0595)、胰岛素试剂盒(货号 SEKR-0033),Solarbio 公司;肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 试剂盒(货号 E-EL-R2856c)、白细胞介素 6 (IL-6) 试剂盒(货号 E-EL-R0015c),Elabscience 公司;戊巴比妥钠(上海实验试剂有限公司,货号 163620);伊红 Y (水溶性)(国药集团化学试剂有限公司,货号 71014544),苏木素(Sigma 公司,货号 H9627),油红 O 染液(武汉博尔夫生物科技有限公司,货号 D9542);多聚甲醛(Biosharp 公司,货号 BL539A);ECL 底物(Thermo 公司,货号 NCI5079)。

韩式穴位神经刺激仪(南京济生医疗科技有限公司, HANS-200A 型);一次性无菌针灸针(吴江市云龙医疗器械有限公司, 0.18 mm×10 mm);血糖仪血糖试纸(鱼跃医疗器械有限公司);全自动生化分析仪(山东博科生物产业有限公司, BK280 型);扫描仪(Canon 公司, LiDE110 型);凝胶成像系统(Bio-rad 公司, ChemiDoc™XRS+ 型);光学

显微镜(奥林巴斯公司, BX53 型);台式高速冷冻离心机(大龙公司, D3024R 型)。

1.3 分组、模型制备及干预方法

大鼠经适应性喂养 3 天后,按照随机数字表分成空白组、模型组、电针组,每组 6 只。空白组予以基础饲料喂养,模型组和电针组予高脂饲料喂养^[11]制备高脂血症模型,各组大鼠均自由进食、饮水。喂养 8 周后,采用眼眶后静脉丛采血法采血并检测血脂四项,以模型大鼠血清 TC、TG、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 中一项或多项高于空白组,伴随或不伴 HDL-C 降低,差异有统计学意义,评价为造模成功^[12]。本研究结果显示,与空白组比较,模型组、电针组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平均高于空白组 ($P<0.05$);各组大鼠 HDL-C 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),提示造模成功。

8 周造模完成后,电针组大鼠以自制鼠衣捆绑,选取双侧“丰隆”穴,位于腓骨中段,约为腓骨小头下 7 mm^[13]。以 0.18 mm×10 mm 一次性无菌针灸针刺双侧丰隆,并连接韩式穴位神经刺激仪,频率 2 Hz/100 Hz,强度 1 mA。模型组大鼠每天同一时间段捆绑。两组均每天 1 次,每次 30 min,每周连续 5 天,连续 4 周。空白组不予特殊处理,仍以基础饲料喂养。模型组和电针组大鼠持续予以高脂饲料喂养。

1.4 取材

干预结束后,隔夜禁食,予 10% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉后,采用尾尖少量取血用于检测大鼠空腹血糖。迅速打开腹腔,腹主动脉采血法取血 2 ml,静置后,4 °C、3000 r/min 离心 10 min (离心半径 8.5 cm),取上清,置于-80 °C 冰箱冻存。完整取下肝脏,滤纸吸干表面水分。剪取部分肝脏组织置于-80 °C 冰箱冻存。另取部分肝脏组织置于 4% 多聚甲醛中固定。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 肝脏 TG 和 FFA 水平检测 取冻存的肝脏组织 0.1 g,研磨匀浆后,4 °C、8000 r/min 离心 10 min (离心半径 8.5 cm),取上清液,严格按照试剂盒说明检测肝脏 TG、FFA 含量。

1.5.2 血糖、血脂、肝功能及炎症指标检测 以血糖仪检测大鼠空腹血糖 (FBG)。取冻存的腹主动脉血清 500 μ l,用全自动生化分析仪检测血清 TG、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 含量。另取冻存的腹主动脉血清 500 μ l,

严格按照试剂盒说明检测血清 FFA、空腹胰岛素 (FINS)、TNF- α 、IL-6 含量。胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) = FBG (mmol/L) $\times$ FINS (μ U/ml)/22.5 计算^[14]。

1.5.3 肝组织病理情况 肝脏 HE 染色: 取多聚甲醛中固定的肝组织 3 g, 进行梯度乙醇脱水, 增加透明度, 石蜡包埋、切片、脱蜡等操作, 用 HE 染色, 中性树胶封片, 光学显微镜下观察肝组织形态。

油红 O 染色: 取冻存的肝组织 3 g, 包埋、切片, 4% 多聚甲醛固定 15 min, 然后进行水洗。油红 O 染色 8~10 min (避光), 后用 75% 乙醇稍分化, 水洗后苏木素复染 3~5 min, 封片, 用光学显微镜拍照, 观察肝组织脂质蓄积情况。

1.5.4 免疫荧光法检测肝组织 SREBP1c、FASN、SCD1 表达 取多聚甲醛固定的肝组织 3 g, 石蜡包埋后切片, 脱蜡, PBS 冲洗后微波修复。3% 过氧化氢溶液浸泡 10 min, 5% 血清封闭 1 h。分别以 SREBP1c 一抗 (1:200)、FASN 一抗 (1:200)、SCD1 一抗 (1:200), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。PBS 清洗 3 次, 加二抗 (1:100), 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中孵育 1 h, PBS 冲洗。DAPI 染液染核 5 min, 后 PBS 漂洗, 添加抗荧光淬灭剂显影。显微镜下观察并采集图像, Image J 1.8.0 软件计算平均免疫荧光强度。

1.5.5 Western Blot 法检测大鼠肝组织 IRS1、p-IRS1-Tyr 蛋白表达 取冻存的肝组织 0.1 g, 匀浆后提取总蛋白, BCA 法测定其浓度。制胶, 上样, 经电泳、转膜后, 封闭 1 h, 分别加入 IRS1 一抗 (1:2000)、p-IRS1-Tyr 一抗 (1:1000), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。清洗 3 次后, 加入二抗 (1:5000) 孵育 30 min, 清洗 4 次, ECL 发光法进行显色, 以 Image J 1.8.0 软件分析条带灰度值。以目的蛋白条带灰度值与内参蛋白条带灰度值比值作为相对蛋白表达量。

1.6 统计学方法

采用 GraphPad Prism 9 软件进行统计学处理。数据均符合正态分布且方差齐, 以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两间比较采用 LSD 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 FBG、FINS 和 HOMA-IR 比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组大鼠 FBG、FINS、HOMA-IR 水平升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 电针组大鼠 FBG、FINS、HOMA-IR 水平均显著下降 ($P<0.05$)。

表 1 各组大鼠 FBG、FINS、HOMA-IR 比较

Table 1 Comparison of FBG, FINS, and HOMA-IR

in different rat groups ($\bar{x}\pm s$)				
组别	鼠数	FBG/mm $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	FINS/ $\mu\text{U}\cdot\text{ml}^{-1}$	HOMA-IR
空白组	6	5.37 $\pm$ 0.27	16.87 $\pm$ 1.24	4.02 $\pm$ 0.30
模型组	6	7.35 $\pm$ 0.54 ^{a)}	22.52 $\pm$ 2.73 ^{a)}	7.33 $\pm$ 0.84 ^{a)}
电针组	6	5.70 $\pm$ 0.45 ^{b)}	17.93 $\pm$ 2.67 ^{b)}	4.79 $\pm$ 0.92 ^{b)}

注: FBG, 空腹血糖; FINS, 空腹胰岛素; HOMA-IR, 胰岛素抵抗指数。

a) 与空白组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠血清 TG、FFA、ALT、AST、TNF- α 、IL-6 含量比较

表 2 示, 与空白组比较, 模型组大鼠血清 TG、FFA、AST、ALT、TNF- α 、IL-6 水平显著升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, 电针组大鼠血清 TG、FFA、AST、ALT、TNF- α 、IL-6 水平明显降低 ($P<0.05$)。

2.3 各组大鼠肝脏 TG、FFA 含量比较

表 3 示, 与空白组比较, 模型组大鼠肝脏 TG、FFA 含量显著上调 ($P<0.05$); 与模型组比较, 电

表 2 各组大鼠血清 TG、FFA、ALT、AST、TNF- α 、IL-6 含量比较

Table 2 Comparison of serum TG, FFA, ALT, AST, TNF- α , and IL-6 levels in different rat groups

($\bar{x}\pm s$)				
组别	鼠数	TG/mm $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	FFA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	ALT/U $\cdot\text{L}^{-1}$
空白组	6	0.68 $\pm$ 0.08	266.95 $\pm$ 24.71	31.05 $\pm$ 3.42
模型组	6	2.76 $\pm$ 0.18 ^{a)}	471.28 $\pm$ 27.28 ^{a)}	77.21 $\pm$ 5.87 ^{a)}
电针组	6	1.05 $\pm$ 0.11 ^{b)}	364.28 $\pm$ 32.38 ^{b)}	49.08 $\pm$ 4.03 ^{b)}
组别	鼠数	AST/U $\cdot\text{L}^{-1}$	TNF- α /pg $\cdot\text{ml}^{-1}$	IL-6/pg $\cdot\text{ml}^{-1}$
空白组	6	100.06 $\pm$ 8.59	73.32 $\pm$ 8.43	89.41 $\pm$ 8.71
模型组	6	468.54 $\pm$ 21.26 ^{a)}	237.41 $\pm$ 16.65 ^{a)}	202.97 $\pm$ 9.40 ^{a)}
电针组	6	132.65 $\pm$ 17.80 ^{b)}	122.42 $\pm$ 10.08 ^{b)}	136.51 $\pm$ 4.96 ^{b)}

注: TG, 甘油三酯; FFA, 游离脂肪酸; ALT, 丙氨酸氨基转移酶; AST, 门冬氨酸氨基转移酶; TNF- α , 肿瘤坏死因子 α ; IL-6, 白细胞介素 6。

a) 与空白组比较, $P<0.05$; b) 与模型组比较, $P<0.05$ 。

针组大鼠肝脏TG、FFA 含量显著下降($P<0.05$)。

表3 各组大鼠肝脏TG、FFA 含量比较
Table 3 Comparison of liver TG and FFA content in different rat groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	TG/mg·mg prot ⁻¹	FFA/ μ mol·mg prot ⁻¹
空白组	6	0.13±0.02	0.13±0.02
模型组	6	0.84±0.10 ^{a)}	0.30±0.03 ^{a)}
电针组	6	0.54±0.09 ^{b)}	0.17±0.02 ^{b)}

注：TG，甘油三酯；FFA，游离脂肪酸。
a) 与空白组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ 。

2.4 各组大鼠肝组织病理情况比较

HE 染色（图1）可见，空白组肝组织结构正常，细胞排列有序，胞内可见居中且圆的胞核，胞内无脂滴；模型组肝细胞排列紊乱，细胞核偏向一侧，内有明显的大泡性脂滴，呈广泛脂肪样变；电针组肝细胞排列较规则，细胞内胞核趋于正常，胞内脂滴明显减少。

油红 O 染色（图2）可见，空白组肝细胞核染为蓝色，未见橘红色脂滴；模型组肝细胞质内可见大量鲜红色脂滴，弥漫分布，脂质蓄积严重；电针组较模型组肝细胞脂滴明显减少，呈暗红色，脂质蓄积程度减轻。

2.5 各组大鼠肝组织 SREBP1c、FASN、SCD1 免疫荧光结果比较

表4示，与空白组相比，模型组肝组织SREBP1c、

表4 各组大鼠肝组织SREBP1c、SCD1、FASN 平均荧光强度比较
Table 4 Comparison of average fluorescence intensity of SREBP1c, SCD1, and FASN in liver tissues of different rat groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	SREBP1c	SCD1	FASN
空白组	6	24.91±3.20	25.91±4.36	30.83±2.24
模型组	6	50.93±2.40 ^{a)}	53.00±4.51 ^{a)}	51.53±4.09 ^{a)}
电针组	6	33.21±3.76 ^{b)}	23.89±3.03 ^{b)}	33.16±3.80 ^{b)}

注：SREBP1c，固醇调节元结合蛋白1c；SCD1，硬脂酰辅酶A去饱和酶；FASN，关键酶脂肪酸合酶。

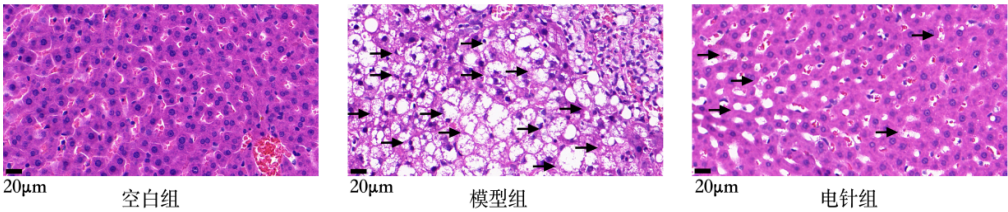
a) 与空白组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ 。

FASN、SCD1 平均荧光强度均显著升高($P<0.05$)；与模型组相比，电针组肝组织 SREBP1c、FASN、SCD1 平均荧光强度均显著降低 ($P<0.05$)。各组大鼠肝组织 SREBP1c、FASN、SCD1 免疫荧光图见图3—图5。

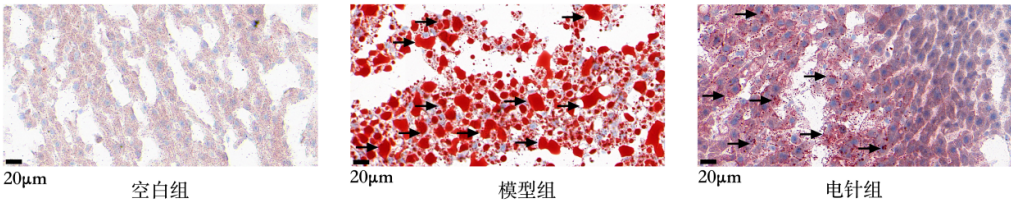
2.6 各组大鼠肝组织 IRS1、p-IRS1-Tyr 蛋白定量比较

表5示，各组大鼠肝组织 IRS1 蛋白表达比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与空白组比较，模型组大鼠肝组织 p-IRS1-Tyr 蛋白表达显著降低 ($P<0.05$)；与模型组比较，电针组大鼠肝组织 p-IRS1-Tyr 蛋白表达显著升高 ($P<0.05$)。

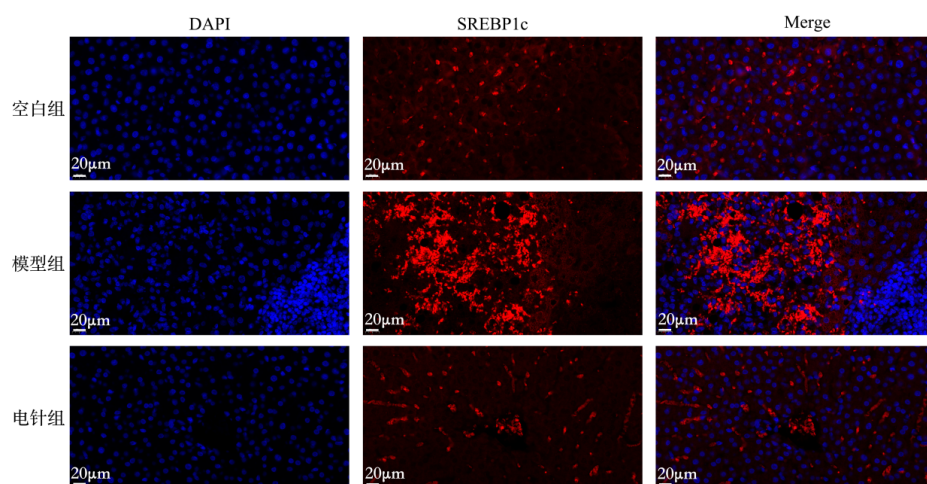
各组大鼠肝组织 IRS1、p-IRS1-Tyr 蛋白印迹图见图6。



注：黑色箭头为脂质蓄积处。
图1 各组大鼠肝组织病理学形态（HE 染色，×40）
Figure 1 Hepatic histopathology in different rat groups (HE staining, ×40)



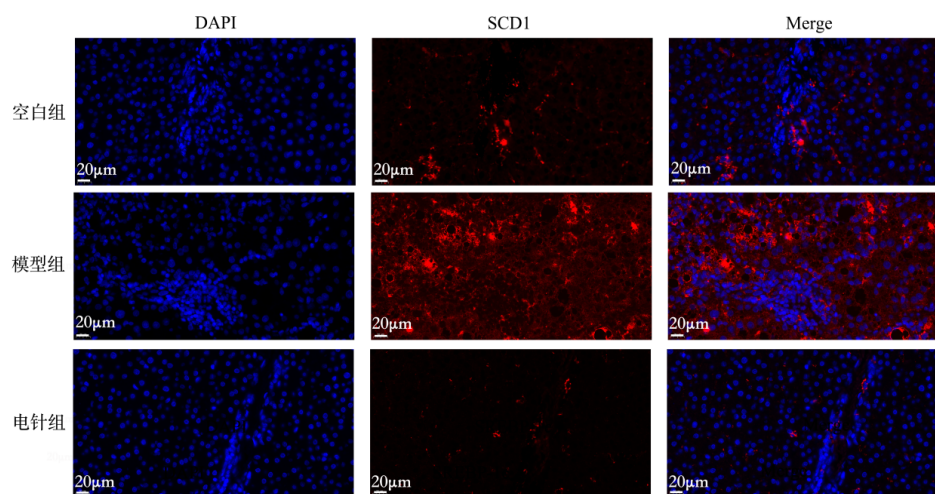
注：黑色箭头为脂质蓄积处。
图2 各组大鼠肝组织病理学形态（油红 O 染色，×40）
Figure 2 Hepatic histopathology in different rat groups (oil red O staining, ×40)



注：SREBP1c，固醇调节元结合蛋白 1c。

图 3 各组大鼠肝组织 SREBP1c 免疫荧光表达情况

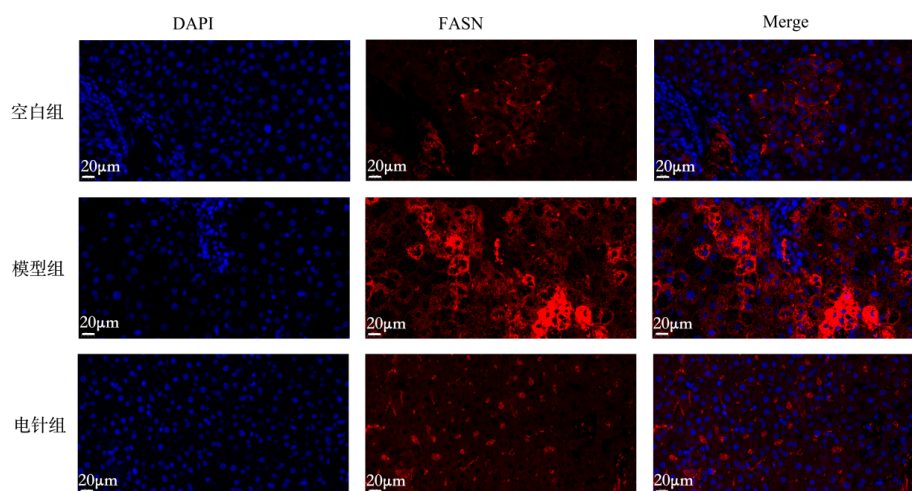
Figure 3 Immunofluorescence expression of SREBP1c in liver tissues of different rat groups



注：SCD1，硬脂酰辅酶 A 去饱和酶。

图 4 各组大鼠肝组织 SCD1 免疫荧光表达情况

Figure 4 Immunofluorescence expression of SCD1 in liver tissues of different rat groups



注：FASN，关键酶脂肪酸合酶。

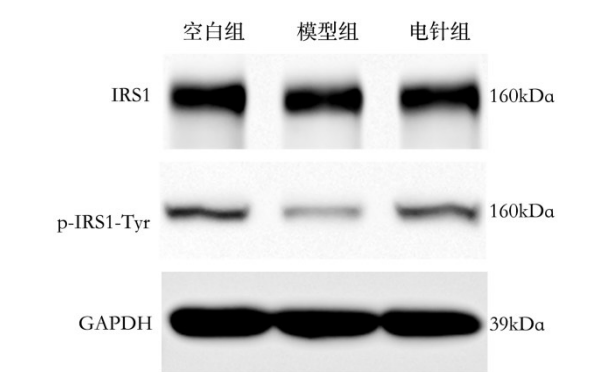
图 5 各组大鼠肝组织 FASN 免疫荧光表达情况

Figure 5 Immunofluorescence expression of FASN in liver tissues of different rat groups

表5 各组大鼠肝组织 IRS1 和 p-IRS1-Tyr 蛋白相对表达量比较
Table 5 Comparison of relative expression of IRS1 and p-IRS1-Tyr proteins in liver tissues of different rat groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	IRS1 相对表达量	p-IRS1-Tyr 相对表达量
空白组	6	0.56±0.03	0.26±0.04
模型组	6	0.51±0.04	0.13±0.03 ^{a)}
电针组	6	0.54±0.06	0.25±0.04 ^{b)}

注：IRS1，胰岛素受体底物 1；p-IRS1-Tyr，酪氨酸磷酸化胰岛素受体底物 1。
a) 与空白组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ 。



注：IRS1，胰岛素受体底物 1；p-IRS1-Tyr，酪氨酸磷酸化胰岛素受体底物 1。
图6 各组大鼠肝组织 IRS1、p-IRS1-Tyr 蛋白印迹图
Figure 6 Western blot images of IRS1 and p-IRS1-Tyr proteins in liver tissues of different rat groups

3 讨论

高血脂水平，尤其是高 TG 和高 FFA 水平，使罹患代谢性疾病风险增高^[15-16]。甘油三酯残余脂蛋白体积每增加 10 nm^[17] 或血清 FFA 高于 0.9 mmol/L 者^[18] 较正常人的新发糖尿病风险分别增加 32%、100%。临床研究发现，高甘油三酯血症患者出现糖耐量异常比例达 39.1%，显著高于高胆固醇血症患者 17.1% 的比例，早期发现并干预这部分患者，可有效降低临床心血管事件的发生率^[5]。中医学中，血脂属“膏”“脂”之类，《灵枢集注》提出：“中焦之气，蒸津液化其精微……溢于外则皮肉膏肥，余于内则膏肓丰满”。高脂血症当属“痰浊”“痰瘀”范畴。《医学心悟》云：“凡人嗜食肥甘，或醇酒奶酪，内湿从内受……湿生痰”。过食肥甘或嗜酒无度等，使津液代谢失常，痰浊内生，甚则因痰致瘀。丰隆穴为治痰之要穴，具有化痰、利湿、健脾之功，《玉龙歌》云：“痰多宜向丰隆寻”，《医学纲目》亦指出：“一切痰饮，取丰隆、中脘”。本实验中，经高脂饲料喂养所致的 HLP 模型大鼠血清 TG、FFA、ALT、AST 水平显著升高，肝脏出

现脂质堆积，肝脏 TG、FFA 升高，且出现胰岛素抵抗。电针“丰隆”穴可有效改善 HLP 模型大鼠血清高 TG、FFA、ALT、AST 水平，减轻肝脏脂质堆积，降低肝脏 TG、FFA 含量，提高胰岛素敏感性。

长期血脂水平异常升高导致肝内脂质沉积过多，其中 TG 从头合成被认为是肝内脂质沉积最主要来源。肝细胞内脂质过度沉积一方面激活肝脏脂质合成酶，使脂质合成加速，进一步加重肝脏脂肪浸润、血脂水平升高；另一方面影响肝胰岛素信号的联级反应而导致胰岛素敏感性下降，产生胰岛素抵抗，从而诱发代谢性疾病^[19-20]。因此，我们进一步观察了电针对 HLP 模型大鼠肝脏脂质合成酶 SREBP1c、FASN、SCD1 和 IRS1 蛋白及其酪氨酸磷酸化水平（p-IRS-Tyr）表达情况。SREBP1c 是脂质从头合成的关键调节基因，SREBP1c 经蛋白水解激活后，可直接进入细胞核并促进 TG 合成限速酶 SCD1 基因和 FA 从头合成关键酶 FASN 基因的转录^[21-23]。本实验发现，HLP 模型大鼠肝组织 SREBP1c、SCD1、FASN 蛋白水平相比于空白组显著上调，电针“丰隆”穴干预后肝组织 SREBP1c、SCD1、FASN 蛋白表达明显下调，提示电针可能通过调节脂质从头合成途径，改善 HLP 模型大鼠脂质代谢紊乱而发挥降脂效果。

有研究^[24]发现，当 TG 分解产物 FFA 在肝组织中异位聚集，通过激活炎症信号、氧化应激和线粒体功能损伤等途径，抑制胰岛素受体底物酪氨酸磷酸化，影响下游磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B（PI3k/Akt）信号通路激活，损害胰岛素信号级联反应，最终形成胰岛素抵抗。本实验结果显示，HLP 模型大鼠肝 p-IRS1-Tyr 水平显著降低，电针干预可有效逆转该改变。提示电针可通过升高 IRS1 的酪氨酸磷酸化水平，减轻 HLP 模型大鼠胰岛素抵抗通路损伤，进而提高胰岛素敏感性。

越来越多的研究证实，炎症因子在胰岛素抵抗发生中起到关键作用^[15,24-25]。炎症因子主要由外周组织产生，可通过干扰胰岛素受体底物酪氨酸磷酸化、抑制葡萄糖转运蛋白-4 转位等途径，达到负性调节胰岛素信号的作用。本研究结果发现，HLP 模型大鼠血清 TNF-α、IL-6 水平显著升高，而电针“丰隆”穴可降低血清 TNF-α、IL-6 水平，因此我们推测，电针对血清炎症因子的下调作用可能是改善 HLP 模型大鼠胰岛素抵抗的途径之一。

综上所述，电针“丰隆”穴不仅可以下调 HLP 模型大鼠血脂水平，同时可以减少肝脏脂质堆积，

改善胰岛素抵抗。其机制可能与调节肝脏脂质代谢紊乱,降低炎症因子水平,提高肝脏 IRS1 酪氨酸磷酸化蛋白的表达,从而减轻脂质沉积对胰岛素信号通路的损伤有关。本实验仅从肝脏脂质合成相关分子、胰岛素底物受体和炎症因子的角度观察了电针作用的部分机制,今后将进一步探索电针作用涉及的关键通路,以期提供更强有力的实验证据。

参考文献

- [1] KOPIN L, LOWENSTEIN C. Dyslipidemia [J]. *Ann Intern Med*, 2017, 167(11): ITC81-ITC96.
- [2] 高甘油三酯血症临床管理多学科专家共识工作组. 高甘油三酯血症临床管理多学科专家共识[J]. *中国循环杂志*, 2023, 38(6): 621-633.
- [3] CHEN LG, CHEN XW, HUANG X, et al. Regulation of glucose and lipid metabolism in health and disease [J]. *Sci China Life Sci*, 2019, 62(11): 1765-1775.
- [4] ASSY N, KAITA K, MYMIN D, et al. Fatty infiltration of liver in hyperlipidemic patients[J]. *Dig Dis Sci*, 2000, 45(10): 1929-1934.
- [5] 王岚,卢明瑜,任景怡,等. 高脂血症患者不同血脂异常分型与糖代谢的相关性研究[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2011, 43(3): 427-431.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2021, 41(5): 482-548.
- [7] 全海燕,江兴,何璐. 线粒体自噬在肝胰岛素抵抗中作用机制的研究进展[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2022, 27(2): 198-204.
- [8] 张红星,张唐法,周利,等. 电针治疗高脂血症的临床研究[J]. *针灸临床杂志*, 2007, 23(4): 7-8.
- [9] 武欢,张照庆,陈丽,等. 基于 SCAP/SREBP-2 通路探讨电针对高脂血症大鼠胆固醇代谢的影响[J]. *针刺研究*. 2023, 48(4): 325-330.
- [10] 金舒文,王琼,周利,等. 电针丰隆穴对高脂血症疗效及对巨噬细胞 JAK2/STAT3/TTP 信号通路的影响[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2020, 22(9): 3424-3431.
- [11] 宋琪,马于巽,张艳贞,等. 基于血脂数据变化的实验性高脂血症动物模型制备[J]. *中国公共卫生*, 2020, 36(1): 1566-1573.
- [12] 赵金明,朱竞赫,陈贺,等. 不同配方高脂乳剂大鼠高脂血症模型的研究[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(1): 177-180.
- [13] 余曙光,郭义. 实验针灸学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2007: 150-153.
- [14] WALLACE TM, LEVY JC, MATTHEWS DR. Use and abuse of HOMA modeling[J]. *Diabetes Care*, 2004, 27(6): 1487-1495.
- [15] 吴海燕,杨宇峰. 游离脂肪酸和胰岛素抵抗相关性研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(3): 147-151.
- [16] ULLAH R, RAUF N, NABI G, et al. Role of nutrition in the pathogenesis and prevention of non-alcoholic fatty liver disease: recent updates [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(2): 265-276.
- [17] CARVALHO LSF, BENSEÑOR IM, NOGUEIRA ACC, et al. Increased particle size of triacylglycerol-enriched remnant lipoproteins, but not their plasma concentration or lipid content, augments risk prediction of incident type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2021, 64(2): 385-396.
- [18] LI QH, ZHAO M, WANG YP. Associations between serum free fatty acid levels and incident diabetes in a 3-Year cohort study [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2021, 14: 2743-2751. doi: 10.2147/DMSO.S302681.
- [19] XIE ZS, LI EW, GAO G, et al. Zexie Tang targeting FKBP38/mTOR/SREBPs pathway improves hyperlipidemia[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 290: 115101. doi: 10.1016/j.jep.2022.115101.
- [20] SAMUEL VT, PETERSEN KF, SHULMAN GI. Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism [J]. *Lancet*, 2010, 375(9733): 2267-2677.
- [21] ZHANG J, ZHANG SD, WANG P, et al. Pinolenic acid ameliorates oleic acid-induced lipogenesis and oxidative stress via AMPK/SIRT1 signaling pathway in HepG2 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 861: 172618. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172618.
- [22] 王凯,柳星峰,李平平. 胰岛素抵抗状态下肝脏脂质合成增加的研究进展[J]. *药学学报*, 2020, 55(2): 189-194.
- [23] 陈成,胡义扬,冯琴. 硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 在肥胖和非酒精性脂肪性肝病中的研究进展[J]. *中华肝脏病杂志*, 2018, 26(7): 545-548.
- [24] PETERSEN MC, SHULMAN GI. Mechanisms of insulin action and insulin resistance[J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(4): 2133-2223.
- [25] AKASH MSH, REHMAN K, LIAQAT A. Tumor necrosis factor- α : role in development of insulin resistance and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(1): 105-110.

Effect of Electroacupuncture at “Fenglong” (ST 40) on Liver Lipid Synthesis and Insulin Resistance in Hyperlipidemic Model Rats

JIN Shuwen¹, LIU Jiabao¹, LI Dan¹, LIU Manqi¹, ZHANG Xi¹, PAN Xiaoli¹, ZHANG Hongxing^{1,2}

1. College of acupuncture and moxibustion and Orthopaedics, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan, 430061; 2. Medical Department, Jiangnan University

ABSTRACT Objective To explore the effect and possible mechanism of electroacupuncture (EA) at Fenglong (ST40) on liver lipid synthesis and insulin resistance (IR) in hyperlipidemic (HLP) rats. **Method** Eighteen rats were randomly divided into three groups, blank group, model group, and EA group, each consisting of six rats. The blank group rats were with fed a basic diet, while those in the model group and EA group were fed high-fat diet for 8 weeks. After modeling, the rats in the EA group received bilateral EA treatment at “Fenglong” (ST 40). The rats in the model group underwent daily binding treatment, once a day, continuously 5 days a week, for a total of 4 weeks. Following the intervention, the levels of triglycerides (TG) and free fatty acids (FFA) in liver tissue was determined using ELISA. Serum TG, FFA, fasting insulin (FINS), alanine transaminase (ALT), aspartate Transaminase (AST), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin 6 (IL-6) were also measured. The fasting plasma glucose (FBG) assessed using a glucose meter and the homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was calculated. Liver pathology was examined through HE staining and oil red O staining. The expression of hepatic sterol regulator binding protein 1c (SREBP1c), recombinant fatty acid synthase (FASN) and stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1) were detected through immunofluorescence. The protein expression levels of liver insulin receptor substrate 1 (IRS1) and tyrosine-phosphorylated insulin receptor substrate 1 (p-IRS1-Tyr) were determined via Western blot. **Results** When compared to the blank group, the model group of rats exhibited elevated serum and liver tissue levels of TG and FFA, as well as increased serum levels of AST, ALT, TNF- α , IL-6, FBG, FINS, and HOMA-IR ($P < 0.05$). HE staining revealed disordered arrangements of liver cells, indicating widespread fatty degeneration. Oil red O staining showed abundant bright red lipid droplets within liver cell cytoplasm, indicating severe lipid accumulation. The average fluorescence intensity of SREBP1c, FASN, and SCD1 in liver tissue significantly increased ($P < 0.05$), while p-IRS1-Tyr protein expression levels significantly decreased ($P < 0.05$). In comparison to the model group, the EA group of rats showed significantly reduced serum and liver tissue levels of TG and FFA, along with decreased serum levels of AST, ALT, TNF- α , IL-6, FBG, FINS, and HOMA-IR ($P < 0.05$). HE staining indicated more regular arrangements of liver cells, and oil red O staining revealed a significant reduction in liver cell lipid droplets, indicating a less severe degree of lipid accumulation. The average fluorescence intensity of SREBP1c, FASN, and SCD1 in liver tissue significantly decreased ($P < 0.05$), while p-IRS1-Tyr protein expression levels significantly increased ($P < 0.05$), with no significant difference in IRS1 protein expression ($P > 0.05$). **Conclusion** EA at “Fenglong” (ST 40) can significantly decrease serum lipid in HLP rats, improves liver fat accumulation, and also ameliorate insulin resistance. The mechanism may be related to the inhibition of hepatic lipid synthesis molecule expression, reduced serum inflammatory factors, and an increase in insulin substrate receptor phosphorylation levels.

Keywords hyperlipidemia; electroacupuncture; Fenglong (ST 40); serum lipids; blood sugar; insulin resistance; inflammatory factors

(收稿日期: 2023-07-28; 修回日期: 2023-09-11)

[编辑: 王利芬]