

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2025.09.013

二陈汤对代谢综合征痰证模型小鼠血清瘦素及下丘脑 LepR、POMC、NPY 表达的影响

杨梦晗¹, 李缘缘¹, 郑秀娟¹, 熊文慧¹, 黄浠睿¹, 高碧珍²✉

1. 福建中医药大学中医学院, 福建省福州市闽侯上街邱阳路1号, 350122; 2. 福建中医药大学中西医结合学院

[摘要] **目的** 探讨二陈汤改善代谢综合征(MS)痰证的可能作用机制。**方法** 将40只小鼠随机分成空白组10只和造模组30只。造模组小鼠采用高脂饮食诱导建立MS痰证小鼠模型。将30只造模成功的小鼠随机分为模型组、二陈汤组和二甲双胍组,每组10只。二陈汤组小鼠给予二陈汤11.1 g/(kg·d)灌胃,二甲双胍组给予二甲双胍溶液0.4 g/(kg·d)灌胃,空白组和模型组则给予灭菌饮用水0.02 ml/(g·d)灌胃,每日1次,共干预4周。记录各组小鼠体质量、腹围、体长、Lee's指数、进食量,检测空腹血糖和血脂[包括甘油三酯(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)]水平,ELISA法检测血清瘦素水平,HE染色观察肝脏组织病理变化,Western Blot和q-PCR法分别检测下丘脑组织中瘦素受体(LepR)、阿黑皮素原(POMC)、神经肽Y(NPY)蛋白水平和mRNA表达,免疫荧光法检测下丘脑弓状核区域POMC和NPY荧光表达量。**结果** 病理结果显示,模型组小鼠肝细胞见大量脂肪空泡,肝脏脂肪沉积明显增多;二陈汤组和二甲双胍组脂肪空泡减少,肝脏脂肪沉积程度减轻。与空白组比较,模型组小鼠肝脏脂肪沉积,小鼠体质量、腹围、Lee's指数升高,进食量增加,空腹血糖、TG、TC、LDL-C、血清瘦素水平升高,HDL-C水平降低,LepR、POMC蛋白水平及其mRNA表达降低,NPY蛋白水平及其mRNA表达升高,下丘脑弓状核区域POMC荧光表达量降低、NPY荧光表达量升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组比较,二陈汤组和二甲双胍组小鼠上述各指标均显著改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与二陈汤组比较,二甲双胍组体质量、NPY荧光表达量降低,HDL-C水平升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 二陈汤可以下调血清瘦素水平,改善代谢综合征痰证糖脂代谢,其作用机制可能是减轻肝脏脂肪沉积,影响下丘脑中与摄食活动相关的神经肽的表达。

[关键词] 代谢综合征;痰证;瘦素;瘦素受体;阿黑皮素原;神经肽Y

代谢综合征(metabolic syndrome, MS)是以肥胖、高血压、高血糖、血脂异常等为主要表现的一组临床综合征^[1]。研究显示,瘦素在MS的发生、发展过程中发挥着重要的作用^[2]。在肝脏中,瘦素可增强脂肪分解代谢^[3];在下丘脑中,瘦素可与瘦素受体(LepR)结合,通过激活相关通路,影响下丘脑弓状核中与摄食活动相关的神经肽前阿黑皮素(POMC)和神经肽Y(NPY)的水平,以调控机体摄食活动,参与能量代谢,从而改善代谢紊

乱^[4]。中医学认为,MS可归属于“脾瘕”“肥满”等范畴,痰是MS的核心病理因素,贯穿于MS整个病程^[5-6],化痰法是治疗MS的有效疗法^[6]。二陈汤作为治疗痰证之基础方,能够燥湿化痰、理气和胃,可治疗各类痰证^[7]。研究^[8]发现,二陈汤可改善痰证模型小鼠糖脂代谢紊乱,但二陈汤化痰机制是否与下调小鼠血清瘦素水平有关尚不明确。因此,本研究进一步观察二陈汤对MS痰证模型小鼠血清瘦素水平及下丘脑LepR、POMC和NPY的影响,以探索其改善MS痰证的可能作用机制。本实验通过福建中医药大学实验动物伦理委员会审查,批准文号:FTCMACUC2022193。

基金项目:国家自然科学基金(81873234,82474392);福建省卫生教育联合攻关计划项目(2019-WJ-39);福建省自然科学基金(2021J01891)

✉ 通讯作者:gbz688@163.com

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠 40 只, 6 周龄, 体重 (18±2) g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 实验动物许可证号: SCXK (沪) 2022-0004。饲养于福建中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房, 室温 (23±3) °C, 光照 12 h, 饮食饮水无干预。适应性喂养 1 周后进入实验。

1.2 药物

二陈汤组成: 陈皮 15 g, 法半夏 15 g, 茯苓 9 g, 炙甘草 4.5 g, 乌梅 1 枚 (约 3 g), 生姜 7 片 (约 9 g), 共 55.5 g。购自福建中医药大学附属第三人民医院 (批号: 10395547)。药物浸泡 1 h 后, 武火煮沸, 文火煎煮 30 min, 重复两次, 合并过滤, 浓缩至 0.555 g/ml, 4 °C 保存。盐酸二甲双胍片 (0.5 g/片×20 片, 中美上海施贵宝制药有限公司, 批号: ACG9547), 使用前以 0.9% 生理盐水将研磨后的二甲双胍片配成浓度为 0.02 g/ml 的溶液。

1.3 主要试剂及仪器

普通饲料 [含有 5% 的脂肪, 23% 的蛋白质和 53% 的碳水化合物, 批号: (2019)06076], 北京华阜康生物科技股份有限公司; 60% 脂肪供能饲料 (含有 60% 的脂肪, 20% 的蛋白质和 20% 的碳水化合物, 总热量值为 5240 kcal/kg, 批号: FB2023101503), 无锡帆泊生物技术有限公司; 乌拉坦 (上海源叶生物技术有限公司, 货号: S11036); 甘油三酯 (TG) 比色法试剂盒 (货号: AK04PP688675)、总胆固醇 (TC) 比色法试剂盒 (货号: WZ08NR6J8340)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 比色法试剂盒 (货号: WZ06VHF25675)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 比色法试剂盒 (货号: WZ05X08L4424), 武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; 瘦素酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 货号: WZ0426003172); 4% 多聚甲醛 (biosharp 生物技术有限公司, 货号: BL539A); 苏木素-伊红染色液 (上海源叶生物技术有限公司, 货号: N25HR202423); RNA 提取及纯化试剂盒 (货号: 7E0331K3)、RNA 逆转录试剂盒 (货号: 7E731J3)、PCR 扩增试剂盒 (货号: 7E702L3), 南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 增强型 RIPA 裂解液 (武汉博士德生物工程有限公司, 货号: AR0102); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (江苏凯基生物技术股份有限公司, 货号: kgp902);

POMC 一抗 (美国 Abcam 公司, 货号: ab254257); NPY 一抗 (美国 Cell Signaling 公司, 货号: 11976S); LepR 一抗 (货号: 20966-1-AP)、 β -actin (货号: HRP-66009)、山羊抗鼠二抗 (货号: SA00001-1)、山羊抗兔二抗 (货号: RGAR001), 武汉三鹰生物技术有限公司; CY3 标记山羊抗兔 IgG (武汉赛维尔生物科技有限公司, 货号: GB21303)。

血糖仪 (三诺生物传感股份有限公司, 型号: SN9436761); 全自动生化分析仪 (深圳雷杜生命科技公司, 型号: Chemray 800); 立式冷冻离心机 (美国 Thermo Fisher 公司, 型号: 5424R); 生物显微镜 (奥林巴斯公司, 型号: CX23 酶标仪); 酶标仪 (奥地利 Tecan 公司, 型号: Infinite M200 pro); 基因扩增仪 (型号: Veriti)、荧光定量 PCR 仪 (型号: QuansStudio6 Flex), 美国 Applied Biosystems 公司; 化学发光凝胶成像系统 (美国 Bio-Rad 公司, 型号: Chemi Doc™ XRS+); 冰冻切片机 (德国 Leica 公司, 型号: CM1950); 正置荧光显微镜 (德国 Carl Zeiss 公司, 型号: Axio Imager A2)。

1.4 造模、分组及干预

40 只 C57BL/6 雄性小鼠适应性喂养 1 周后, 按体重质量从大到小依次编号, 采用随机数字表法分为空白组 10 只和造模组 30 只。空白组小鼠给予普通饲料喂养, 造模组小鼠给予 60% 脂肪供能饲料, 持续造模 8 周建立 MS 痰证模型^[9-10]。MS 痰证模型评价标准^[9-10]为: 1) 体质量、腹围、血糖、TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平较正常小鼠升高, 差异具有统计学意义; 2) 具有典型的痰证证候表现: 形态肥胖、大便黏腻、体毛色泽晦暗、精神萎靡、倦怠少动等。

30 只小鼠均造模成功, 采用随机数字表法分为模型组、二陈汤组和二甲双胍组, 每组 10 只。按照人与动物剂量常规算法即小鼠给药剂量为人的 12 倍^[11]计算给药剂量, 二陈汤组和二甲双胍组分别给予相应药物 11.1 g/(kg·d)、0.4 g/(kg·d), 以 0.02 ml/(g·d) 进行灌胃, 空白组和模型组则给予等体积的灭菌饮用水灌胃, 每日 1 次, 共干预 4 周。干预期间空白组小鼠继续喂养普通饲料, 模型组、二陈汤组和二甲双胍组继续给予 60% 脂肪供能饲料喂养。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 体质量、腹围、体长、Lee's 指数、进食量 干预 4 周后检测小鼠体质量, 测量腹围、体长, 计算 Lee's 指数, 计算公式为 Lee's 指数=体质量(g)^{1/3}×10³/体长 (cm), 每周记录小鼠进食量。

1.5.2 血糖、血脂、血清瘦素水平检测 于最后一次灌胃后次日早晨 8:00 取小鼠尾尖血检测小鼠空腹血糖,再以 20% 乌拉坦 0.005 ml/g 进行腹腔注射麻醉,麻醉后摘眼球采血,4℃、3000 r/min 离心 20 min,离心半径 8.5 cm,取上清液于冻存管后放置-80℃冰箱冻存。采用全自动生化分析仪检测各组小鼠血清 TG、TC、HDL-C、LDL-C 及血清瘦素水平,根据试剂盒说明书检测。

1.5.3 HE 染色观察肝脏组织病理情况 采血完成后摘取小鼠肝脏组织,取部分置于 EP 管中,加入 4% 多聚甲醛固定 24 h 后,然后经过脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、染色、封片,光镜下观察肝脏组织形态。

1.5.4 q-PCR 法检测下丘脑组织 *LepR*、*POMC*、*NPY* mRNA 表达 每组采用随机数字表法选 4 只小鼠,取下丘脑组织置于冻存管并迅速投入液氮冷冻,置于-80℃冰箱保存备用。取 30~50 mg 下丘脑组织提取下丘脑总 RNA 并检测其浓度及纯度,逆转录生成 cDNA,在冰上配置 q-PCR 反应体系进行扩增,将各扩增反应产生的 CT 值用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算,所得结果为目的基因的 mRNA 相对表达量。引物由尚亚生物技术有限公司合成,序列见表 1。

表 1 *LepR*、*POMC*、*NPY* 基因引物序列

Table 1 Primer sequences for *LepR*, *POMC*, and *NPY* genes

基因	序列 (5'→3')	长度/bp
<i>LepR</i>	上游 AGAACCAGCGCACACTGTTA	113
	下游 GTGACTCCACAGCACTCACT	
<i>POMC</i>	上游 GGCCATTAGGCTTGAGCAG	188
	下游 CTTGTGCGGTTCTTGATGA	
<i>NPY</i>	上游 GGAAGTACCCCTCGCTCTATC	137
	下游 ATGTAGTGTGCGAGAGCGG	
<i>β-actin</i>	上游 TGTCCACCTTCCAGCAGATGT	101
	下游 AGCTCAGTAACAGTCCGCCTAG	

注: *LepR*, 瘦素受体; *POMC*, 前阿黑皮素; *NPY*, 神经肽 Y。

1.5.5 Western Blot 法检测下丘脑组织 *LepR*、*POMC*、*NPY* 蛋白水平 每组采用随机数字表法在剩余小鼠中取 3 只小鼠下丘脑组织,使用裂解液提取下丘脑组织总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。进行配胶、电泳、转膜、封闭,加入一抗 (β -actin 1:25 000, *LepR* 1:600, *POMC* 1:2000, *NPY* 1:2000) 4℃过夜, TBST 洗膜后,加入二抗 (1:5000) 室温孵育 45 min,显影曝光,并保存图片。使用 Image Lab Software 6.1 分析条带,计算灰度值。

1.5.6 免疫荧光检测下丘脑组织弓状核区域 *POMC*、*NPY* 蛋白荧光表达 每组剩余 3 只小鼠心脏灌注后取出全脑置于 4% 多聚甲醛中固定, OCT 包埋,经过脱水、冷冻切片、孵育、血清封闭、滴加相应一抗 (*LepR* 1:100, *POMC* 1:100, *NPY* 1:200) 过夜,避光加入二抗 (CY3 山羊抗兔 IgG 1:100) 进行孵育及封片,荧光显微镜下观察蛋白荧光表达。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计学软件分析。计量数据均符合正态分布,用均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,方差齐时多组间比较采用单因素方差分析,两两比较用 LSD 检验;方差不齐时用 Dunnett T^s 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠体质量、腹围、体长、Lee's 指数、进食量比较

表 2 示,与空白组比较,模型组小鼠体质量、腹围、Lee's 指数升高,进食量增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组比较,二陈汤组和二甲双胍组体质量、腹围、Lee's 指数降低,进食量减少 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与二陈汤组比较,二甲双胍组体质量降低 ($P<0.05$),腹围、体长、Lee's 指数、进食量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。各组小鼠体长比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 2 各组小鼠体质量、腹围、体长、Lee's 指数、进食量比较

Table 2 Comparison of body weight, abdominal circumference, body length, Lee's index, and food intake in mice from each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	体质量/g	腹围/cm	Lee's 指数	进食量/g	体长/cm
空白组	10	24.95±0.74	7.04±0.55	316.77±9.78	55.90±8.07	9.23±0.24
模型组	10	37.14±2.92 ^{a)}	9.15±0.67 ^{a)}	353.88±13.73 ^{a)}	72.48±10.42 ^{a)}	9.43±0.29
二陈汤组	10	30.54±1.97 ^{c)}	7.60±0.46 ^{c)}	338.19±7.78 ^{c)}	59.18±6.43 ^{d)}	9.24±0.14
二甲双胍组	10	28.53±1.36 ^{c) e)}	7.56±0.44 ^{c)}	331.04±6.09 ^{c)}	54.00±4.99 ^{c)}	9.23±0.17

注: a) 与空白组比较, $P<0.01$; b) 与空白组比较, $P<0.05$; c) 与模型组比较, $P<0.01$; d) 与模型组比较, $P<0.05$; e) 与二陈汤组比较, $P<0.05$ 。

表3 各组小鼠血糖、血脂及血清瘦素水平比较

Table 3 Comparison of blood glucose, blood lipids, and serum leptin levels in mice from each group ($\bar{x}\pm s$)							
组别	鼠数	空腹血糖/mm $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	TG/mm $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	TC/mm $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	HDL-C/mm $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	LDL-C/mm $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	瘦素/ng $\cdot\text{ml}^{-1}$
空白组	10	5.18 $\pm$ 0.67	0.63 $\pm$ 0.13	3.58 $\pm$ 0.35	1.67 $\pm$ 0.03	3.67 $\pm$ 0.67	4.89 $\pm$ 0.86
模型组	10	7.71 $\pm$ 0.85 ^{a)}	1.38 $\pm$ 0.15 ^{a)}	8.50 $\pm$ 0.73 ^{a)}	0.82 $\pm$ 0.08 ^{a)}	4.55 $\pm$ 0.64 ^{a)}	11.46 $\pm$ 1.85 ^{a)}
二陈汤组	10	5.99 $\pm$ 0.62 ^{b)}	0.70 $\pm$ 0.16 ^{b)}	6.41 $\pm$ 0.97 ^{b)}	1.84 $\pm$ 0.04 ^{b)}	4.01 $\pm$ 0.50 ^{c)}	7.40 $\pm$ 1.39 ^{b)}
二甲双胍组	10	5.38 $\pm$ 0.61 ^{b)}	0.67 $\pm$ 0.19 ^{b)}	6.16 $\pm$ 1.07 ^{b)}	1.94 $\pm$ 0.08 ^{b) d)}	3.98 $\pm$ 0.51 ^{c)}	6.41 $\pm$ 0.73 ^{b)}

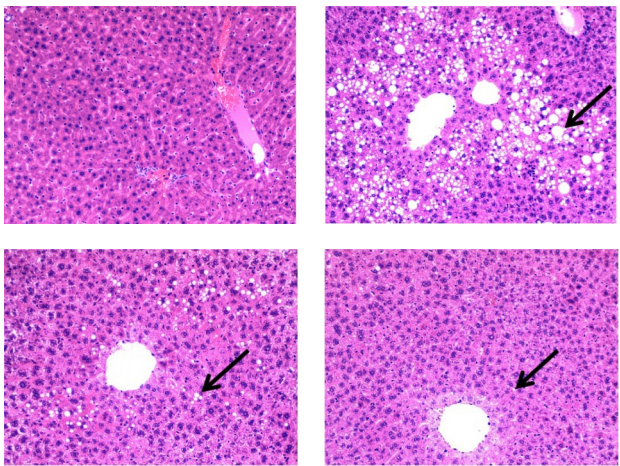
注：TG，甘油三酯；TC，总胆固醇；HDL-C，高密度脂蛋白胆固醇；LDL-C，低密度脂蛋白胆固醇。
a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ ；c) 与模型组比较， $P<0.05$ ；d) 与二陈汤组比较， $P<0.01$ 。

2.2 各组小鼠血糖、血脂及血清瘦素水平比较

表3示，与空白组比较，模型组小鼠空腹血糖、TG、TC、LDL-C、血清瘦素水平升高，HDL-C水平降低（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，二陈汤组和二甲双胍组空腹血糖、TG、TC、LDL-C、血清瘦素水平降低，HDL-C水平升高（ $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ）；与二陈汤组比较，二甲双胍组HDL-C水平升高（ $P<0.01$ ），空腹血糖、TG、TC、LDL-C、血清瘦素水平差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ）。

2.3 各组小鼠肝脏组织病理情况

图1示，空白组小鼠肝细胞边界清晰，排列规则，未见脂肪空泡。模型组小鼠肝细胞排列不规则，肝细胞肿胀，肝细胞见大量大小不等脂肪空泡，提示肝脏脂肪沉积明显增多。与模型组比较，二陈汤组和二甲双胍组肝细胞形态得到改善，脂肪空泡明显变小且数量减少，肝脏脂肪沉积程度减轻。与二陈汤组比较，二甲双胍组肝细胞内脂肪空泡更小且数量减少，肝脏脂肪沉积程度得到明显改善。



注：黑色箭头指示为肝细胞内脂肪空泡。

图1 各组小鼠肝脏组织病理图（HE染色，×400）

Figure 1 Pathological images of liver tissue in mice from each group（HE Staining，×400）

2.4 各组小鼠下丘脑组织 *LepR*、*POMC*、*NPY* mRNA表达比较

表4示，与空白组比较，模型组小鼠下丘脑组织中 *LepR*、*POMC* mRNA表达降低，*NPY* mRNA表达升高（ $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ）；与模型组比较，二陈汤组和二甲双胍组 *LepR*、*POMC* mRNA表达升高，*NPY* mRNA表达降低（ $P<0.01$ ）；与二陈汤组比较，二甲双胍组 *LepR*、*POMC*、*NPY* mRNA表达差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ）。

表4 各组小鼠下丘脑组织 *LepR*、*POMC*、*NPY* mRNA表达比较

Table 4 Comparison of <i>LepR</i> , <i>POMC</i> , and <i>NPY</i> mRNA expression in the hypothalamic tissue of mice from each group ($\bar{x}\pm s$)				
组别	鼠数	<i>LepR</i>	<i>POMC</i>	<i>NPY</i>
空白组	4	1.06 $\pm$ 0.22	1.09 $\pm$ 0.25	1.02 $\pm$ 0.26
模型组	4	0.56 $\pm$ 0.14 ^{a)}	0.47 $\pm$ 0.06 ^{b)}	1.59 $\pm$ 0.39 ^{a)}
二陈汤组	4	0.89 $\pm$ 0.05 ^{c)}	1.72 $\pm$ 0.34 ^{c)}	0.67 $\pm$ 0.15 ^{c)}
二甲双胍组	4	0.92 $\pm$ 0.13 ^{c)}	1.69 $\pm$ 0.66 ^{c)}	0.65 $\pm$ 0.08 ^{c)}

注：*LepR*，瘦素受体；*POMC*，阿黑皮素原；*NPY*，神经肽Y。
a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与空白组比较， $P<0.05$ ；
c) 与模型组比较， $P<0.01$ 。

2.5 各组小鼠下丘脑组织 *LepR*、*POMC*、*NPY* 蛋白水平

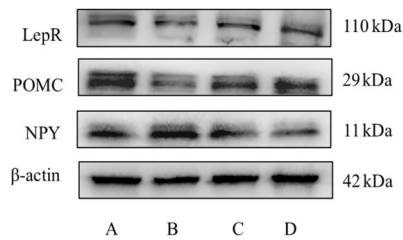
表5示，与空白组比较，模型组小鼠下丘脑组织中 *LepR*、*POMC* 蛋白水平降低，*NPY* 蛋白水平升高；与模型组比较，二陈汤组和二甲双胍组 *LepR*、*POMC* 蛋白水平升高，*NPY* 蛋白水平降低（ $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ）；与二陈汤组比较，二甲双胍组 *LepR*、*POMC* 蛋白水平升高，*NPY* 蛋白水平降低（ $P<0.01$ ）。

Table 5 Comparison of <i>LepR</i> , <i>POMC</i> , and <i>NPY</i> protein levels in the hypothalamic tissue of mice from each group ($\bar{x}\pm s$)				
组别	鼠数	<i>LepR</i>	<i>POMC</i>	<i>NPY</i>
空白组	3	0.85 $\pm$ 0.21	0.84 $\pm$ 0.06	0.63 $\pm$ 0.16
模型组	3	0.41 $\pm$ 0.07 ^{a)}	0.67 $\pm$ 0.03 ^{a)}	0.99 $\pm$ 0.23 ^{b)}
二陈汤组	3	0.73 $\pm$ 0.17 ^{c)}	0.83 $\pm$ 0.06 ^{d)}	0.60 $\pm$ 0.17 ^{c)}
二甲双胍组	3	0.76 $\pm$ 0.15 ^{c)}	0.82 $\pm$ 0.07 ^{c)}	0.50 $\pm$ 0.13 ^{d)}

注：*LepR*，瘦素受体；*POMC*，阿黑皮素原；*NPY*，神经肽Y。
a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与空白组比较， $P<0.05$ ；
c) 与模型组比较， $P<0.05$ ；d) 与模型组比较， $P<0.01$ 。

升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；与模型组比较，二陈汤组和二甲双胍组 LepR、POMC 蛋白水平升高，NPY 蛋白水平降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；与二陈汤组比较，二甲双胍组 LepR、POMC、NPY 蛋白水平差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

各组小鼠下丘脑组织 LepR、POMC、NPY 蛋白电泳图见图 2。



注：LepR，瘦素受体；POMC，阿黑皮素原；NPY，神经肽 Y；A，空白组；B，模型组；C，二陈汤组；D，二甲双胍组。

图 2 各组小鼠下丘脑组织 LEPR、POMC、NPY 蛋白电泳图
Figure 2 Electrophoresis images of LEPR, POMC, and NPY proteins in the hypothalamic tissue of mice from each group

2.6 各组小鼠下丘脑组织弓状核区域 POMC、NPY 荧光表达量比较

表 6 示，与空白组比较，模型组小鼠下丘脑组织弓状核区域中 POMC 荧光表达量降低，NPY 荧光表达量升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，二陈汤组和二甲双胍组 POMC 荧光表达量升高，NPY 荧光表达量降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；与二陈汤组比较，二甲双胍组 NPY 荧光表达量降低 ($P<0.01$)，POMC 荧光表达量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。各组小鼠下丘脑组织弓状核区域 POMC、NPY 荧光表达情况见图 3、图 4。

表 6 各组小鼠下丘脑组织弓状核区域 POMC、NPY 荧光表达量比较

Table 6 Comparison of fluorescence expression of POMC and NPY in the arcuate nucleus region of the hypothalamus in mice from each group ($\bar{x}\pm s$)

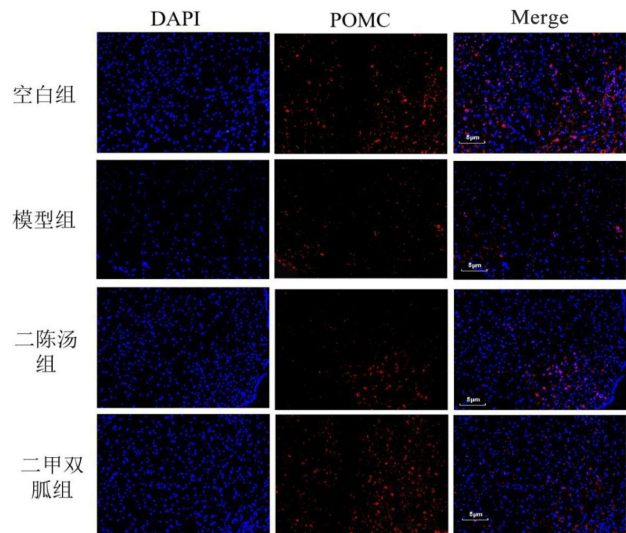
组别	鼠数	POMC	NPY
空白组	3	1.00±0.06	1.00±0.02
模型组	3	0.66±0.09 ^{a)}	1.51±0.12 ^{a)}
二陈汤组	3	0.89±0.03 ^{b)}	1.30±0.12 ^{c)}
二甲双胍组	3	0.91±0.04 ^{b)}	1.01±0.06 ^{b) d)}

注：POMC，前阿黑皮素；NPY，神经肽 Y。

a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ ；c) 与模型组比较， $P<0.05$ ；d) 与二陈汤组比较， $P<0.01$ 。

3 讨论

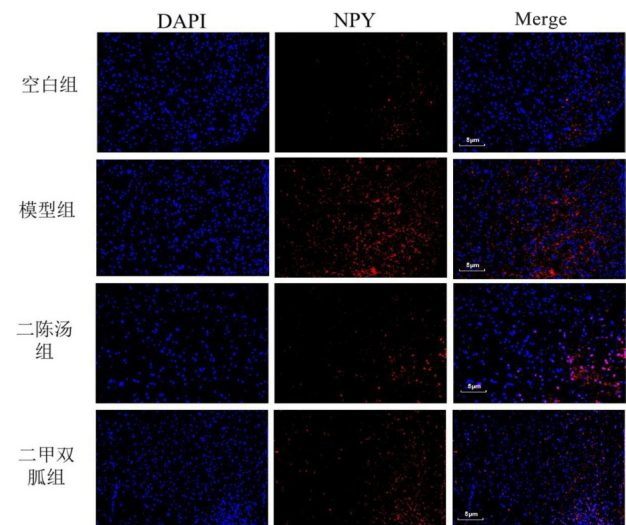
中医学将 MS 归类于“肥胖”“脾瘕”“肥满”



注：DAPI，4',6-二脒基-2-苯基吡啶；POMC，前阿黑皮素；Merge 即为 POMC 与 DAPI 重合。

图 3 各组小鼠下丘脑组织弓状核区域 POMC 蛋白荧光表达情况 ($\times 200$)

Figure 3 Fluorescence expression of POMC protein in the arcuate nucleus region of the hypothalamus in mice from each group ($\times 200$)



注：DAPI，4',6-二脒基-2-苯基吡啶；NPY，神经肽 Y；Merge 即为 NPY 与 DAPI 重合。

图 4 各组小鼠下丘脑组织弓状核区域 NPY 蛋白荧光表达情况 ($\times 200$)

Figure 4 Fluorescence expression of NPY protein in the arcuate nucleus region of the hypothalamus in mice from each group ($\times 200$)

等病证范畴，痰既是 MS 的病理产物，也是其致病因素。《素问·通评虚实论篇》云：“凡治消瘠仆击、偏枯痿厥，气满发逆，肥贵人，则高粱之疾也。”《素问·奇病论篇》曰：“肥者令人内热，甘者令人中满。”《杂病源流犀烛·痰饮源流》也指

出：“由于脾胃寒湿生痰，或饮啖过度，好食油面猪脂，以致脾气不利，壅滞为痰。”MS 患者多平素饮食不节、嗜食肥甘厚味之人脾气易损，气运无力，化生乏源，津液不归正化，聚而为痰湿。二陈汤作为治疗痰证之基础方，功善理气健脾、燥湿化痰，《医方集解》也记载“治痰通用二陈”。临床结果显示，二陈汤联合常规西药治疗可协助改善痰湿蕴脾型 MS 患者的糖脂代谢紊乱并降低体重^[12]。二甲双胍作为临床常用降糖药，多项研究也表明其可以用来治疗 MS 等代谢性疾病^[13-14]。因此，本研究以二陈汤作为干预用药，二甲双胍作为阳性对照组，以进一步深入研究二陈汤改善 MS 痰证的作用机制。

研究表明，瘦素能增强肝脏中脂肪的分解代谢从而促进能量的消耗，但血清瘦素含量较高时，机体对瘦素敏感性降低，则过剩的血清瘦素无法正常发挥降脂作用^[3]。本研究结果显示，与对照组相比，模型组小鼠进食量增加，体质量、腹围以及 Lee's 指数升高，空腹血糖和血清 TG、TC、LDL-C 水平显著升高，HDL-C 水平显著降低。采用二陈汤化痰法和二甲双胍干预后，能够显著降低小鼠空腹血糖水平，降低血清 TG、TC 和 LDL-C 水平，升高血清 HDL-C 水平，表明二陈汤和二甲双胍均可改善糖脂代谢。模型组小鼠还表现为血清瘦素水平升高、肝脏脂肪沉积，经二陈汤和二甲双胍干预后能够显著降低血清瘦素水平，改善肝脏脂肪沉积程度，与既往研究结果^[15]一致。以上结果表明，二陈汤干预可降低 MS 痰证模型小鼠血清瘦素水平，增强瘦素敏感性。并且，二陈汤改善糖脂代谢和降低血清瘦素水平的效果与二甲双胍无明显差异。

此外，瘦素作为中枢神经系统调节能量代谢的关键调节因子，能影响机体食物摄入^[16]，下丘脑是其发挥作用的主要靶器官^[17]。瘦素分泌后，随循环系统进入下丘脑，与下丘脑中的瘦素受体 LepR 结合，调控下游与摄食相关的神经肽 POMC 和 NPY，其中 POMC 抑制食物摄入，NPY 促进食物摄入^[18]。研究^[19-20]显示，长期高脂饮食会导致胰岛素、瘦素等激素水平波动，影响下丘脑弓状核区域中 POMC、NPY 表达，进而影响食欲以及能量消耗。因此，本研究检测了小鼠下丘脑组织中 LepR、POMC 和 NPY 的表达水平。结果显示，与对照组相比，模型组小鼠下丘脑组织中 LepR、POMC 蛋白水平及其 mRNA 表达降低，下丘脑弓状核区域 POMC 荧光表达量也降低；NPY 蛋白及其 mRNA 表达升高，下丘脑弓状核区域 NPY 荧光表达量升高。经过二陈汤和二甲双胍干预后，小鼠下丘脑组织中

LepR、POMC 蛋白水平及其 mRNA 表达升高，下丘脑弓状核区域 POMC 荧光表达量也升高；NPY 蛋白水平及其 mRNA 表达降低，下丘脑弓状核区域 NPY 荧光表达量也降低。以上结果表明，二陈汤可通过促进下丘脑中 LepR 的表达，进而调节下丘脑中 POMC、NPY 的表达，使摄食活动减少，降低血清瘦素水平，增强瘦素敏感性，从而改善 MS 痰证相应症状。

综上所述，二陈汤改善 MS 痰证的作用机制可能与促进下丘脑中 LepR 的表达，进而上调抑制食欲的 POMC 的表达，下调促进摄食的 NPY 的表达有关。本实验尚未阐明瘦素与 LepR 结合后如何调控下丘脑中 POMC 和 NPY 的表达，因此后续可进一步深入研究。

参考文献

- [1]ACHILA OO, ARAYA M, BERHE AB, et al. Metabolic syndrome, associated factors and optimal waist circumference cut points: findings from a cross-sectional community-based study in the elderly population in Asmara, Eritrea [J]. *BMJ Open*, 2022,12(2):e52296.
- [2]王春花,王敏,刘鸿丽,等. 瘦素与代谢综合征相关性的研究进展[J]. *当代医药论丛*, 2019,17(13):35-37.
- [3]MARTÍNEZ-UÑA M, LÓPEZ-MANCHEÑO Y, DIÉGUEZ C, et al. Unraveling the role of leptin in liver function and its relationship with liver diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020,21(24):9368.
- [4]BUETTNER C, POCAI A, MUSE ED, et al. Critical role of STAT3 in leptin's metabolic actions [J]. *Cell Metab*, 2006,4(1):49-60.
- [5]陈淑娇,李灿东,赖新梅,等. 160 例代谢综合征患者中医证候特点研究[J]. *中华中医药杂志*, 2015,30(3):689-692.
- [6]中国医师协会中西医结合医师分会内分泌与代谢病学专业委员会. 代谢综合征病证结合诊疗指南[J]. *世界中医药*, 2023,18(22):3157-3166.
- [7]侯明玉,田财军. 从痰演变过程论述二陈汤[J]. *光明中医*, 2024,39(22):4486-4489.
- [8]严晓丹,唐莉玲,钱长晖,等. 二陈汤抑制高脂饲养肥胖小鼠炎症和肝脏脂肪变性作用研究[J]. *福建中医药*, 2023,54(10):11-14,19.
- [9]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.
- [10]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.
- [11]GAO BZ, CHEN JC, LIAO LH, et al. Erchen decoction prevents high-fat diet induced metabolic disorders in

- C57BL/6 mice [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015;501272. doi: 10.1155/2015/501272.
- [12] 吕文琦, 陈艳, 谢云志. 中西医结合治疗痰湿蕴脾型老年代谢综合征 42 例临床观察[J]. 中国民族民间医药, 2024, 33(21): 92-97.
- [13] 张光辉. 在代谢综合征疾病临床治疗中采用二甲双胍对血糖、血脂水平的影响[J]. 黑龙江中医药, 2021, 50(3): 87-88.
- [14] PASANISI P, OLIVERIO A, BALDASSARI I, et al. Metformin treatment with or without mediterranean diet for the prevention of age-related diseases in people with metabolic syndrome: the mememe randomized trial [J]. Diabetes Care, 2025, 48(2): 265-272.
- [15] 周慧敏. 温肾健脾化痰方调控单纯性肥胖大鼠脂代谢及瘦素抵抗的机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.
- [16] OBRADOVIC M, SUDAR-MILOVANOVIC E, SOSKIC S, et al. Leptin and obesity: role and clinical implication [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 12: 585887. doi: 10.3389/fendo.2021.585887.
- [17] CAVADAS C, AVELEIRA CA, SOUZA GF, et al. The pathophysiology of defective proteostasis in the hypothalamus from obesity to ageing [J]. Nat Rev Endocrinol, 2016, 12(12): 723-733.
- [18] LIU H, DU T, LI C, et al. STAT3 phosphorylation in central leptin resistance [J]. Nutr Metab (Lond), 2021, 18(1): 39.
- [19] ABERDEIN N, DAMBRINO RJ, CARMO JMDO, et al. Role of PTP1B in POMC neurons during chronic high-fat diet: sex differences in regulation of liver lipids and glucose tolerance [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2018, 314(3): R478-R488.
- [20] 杨威. 利拉鲁肽影响肥胖大鼠下丘脑促食、抑食神经元凋亡的机制研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2020.

Effect of *Erchen Decoction* (二陈汤) on Serum Leptin and Expression of LepR, POMC, and NPY in Hypothalamus of Metabolic Syndrome Model Mice with Phlegm Syndrome

YANG Menghan¹, LI Yuanyuan¹, ZHENG Xiujuan¹, XIONG Wenhui¹, HUANG Xirui¹, GAO Bizhen²

1. College of Traditional Chinese Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, fuzhou, 350122; 2. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To explore the potential mechanism of *Erchen Decoction* (二陈汤, ECD) in improving metabolic syndrome (MS) with phlegm syndrome. **Methods** Forty mice were randomly divided into a blank group of 10 mice and a modeling group of 30 mice. The MS model with phlegm syndrome was induced in the modeling group by high-fat diet. Thirty successfully modeled mice were randomly divided into a model group, a ECD group, and a metformin group, with 10 mice in each group. The ECD group was given 0.4 g/(kg·d) of ECD, while the metformin group was intervened with 11.1 g/(kg·d) of metformin solution, and the blank group and the model group were given 0.02 ml/(g·d) of sterilized drinking water, all by gavage, once daily for 4 weeks. Body weight, abdominal circumference, body length, Lee's index and food intake were recorded. Blood glucose and blood lipid levels including fasting blood glucose, triglycerides (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were measured. ELISA was used to detect serum leptin levels, while HE staining was used to observe liver pathological changes. Western Blot and q-PCR were used to detect protein and mRNA expression of hypothalamic leptin receptor (LepR), pro melanocortin (POMC), and neuropeptide Y (NPY) in the hypothalamus. Immunofluorescence was used to detect fluorescence expression of POMC and NPY in the hypothalamic arcuate nucleus region. **Results** Pathological results showed that the mice in the model group had numerous fat vacuoles in hepatocytes and significant liver fat deposition, while the ECD and metformin groups showed reduced fat vacuoles and less liver fat deposition. Compared to those in the blank group, the mice in the model group showed liver fat deposition, increased body weight, abdominal circumference, Lee's index and food intake; fasting blood glucose, TG, TC, LDL-C, and serum leptin levels were elevated, while HDL-C was decreased; the expression of LepR, POMC protein levels and their mRNA expression decreased, while the protein level and mRNA expression of NPY increased; the fluorescence expression of POMC in the arcuate nucleus was reduced, while NPY fluorescence expression increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared to the model group, the ECD group and metformin group showed significant improvements in the above indicators ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared to the ECD group, the metformin group showed a reduction in body weight and NPY fluorescence expression, and an increase in HDL-C levels ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** ECD can downregulate serum leptin levels and improve glucose and lipid metabolism in the MS of phlegm syndrome. Its mechanism of action may be to reduce liver fat deposition and thereafter affect the expression of neuropeptides related to feeding activity in the hypothalamus.

Keywords metabolic syndrome; phlegm syndrome; leptin; leptin receptor; pro-opiomelanocortin; neuropeptide Y

(收稿日期: 2024-12-04; 修回日期: 2025-02-24)

[编辑: 邓媛]