

本文引用:徐拥建,冯高飞,张云城,黄裕华,邓远军. 参苓白术散对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝细胞、Kupffer细胞5-LO/LTB4通路的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(3):292-297.

## 参苓白术散对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝细胞、 Kupffer细胞5-LO/LTB4通路的影响

徐拥建<sup>1</sup>,冯高飞<sup>1</sup>,张云城<sup>1</sup>,黄裕华<sup>1</sup>,邓远军<sup>2</sup>

(1.北京中医药大学深圳医院(龙岗),广东 深圳 518172;2.暨南大学中医药学院,广东 广州 510632)

**[摘要]** 目的 基于5-脂氧化酶(5-lipoxygenase,5-LO)/白三烯B4(leukotrienes B4,LTB4)通路探讨参苓白术散对非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease,NAFLD)大鼠肝细胞、库普弗(Kupffer)细胞作用机制。方法 通过IV型胶原酶离体循环灌注法分离SD大鼠肝细胞及Kupffer细胞,利用油红O染色观察肝组织脂滴蓄积情况;ELISA法检测肝组织LTB4含量;RT-PCR法、Western blot法检测大鼠肝细胞及Kupffer细胞5-LO、白三烯B4受体(LTB4 receptor type 1,BLT1)mRNA及蛋白表达水平。结果 高脂饮食8周能诱导大鼠NAFLD表现,建模成功。与模型组比较,2个药物剂量干预组大鼠肝组织LTB4含量均显著下降( $P<0.01$ );肝细胞、Kupffer细胞中的5-LO、BLT1 mRNA及其蛋白表达水平平均亦有不同程度的下调( $P<0.01$ )。2个剂量组间比较,以高剂量参苓白术散组效果较为显著( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。结论 参苓白术散可能通过抑制NAFLD大鼠肝细胞、Kupffer细胞5-LO/LTB4通路的激活,减轻肝脏脂质蓄积,发挥防治NAFLD的作用。

**[关键词]** 参苓白术散;肝细胞;Kupffer细胞;5-脂氧化酶;白三烯B4

**[中图分类号]**R285.5

**[文献标志码]**A

**[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.03.009

### Effects of Shenling Baizhu Powder on 5-LO/ LTB4 Pathway in Hepatocytes and Kupffer Cells of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Rats

XU Yongjian<sup>1</sup>, FENG Gaofei<sup>1</sup>, ZHANG Yuncheng<sup>1</sup>, HUANG Yuhua<sup>1</sup>, DENG Yuanjun<sup>2</sup>

(1. Shenzhen Hospital (Longgang), Beijing University of Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong 518172, China;

2. School of Traditional Chinese Medicine, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510632, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the action mechanism of Shenqi Baizhu Powder (SBP) on hepatocytes and Kupffer cells of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats based on 5-lipoxygenase (5-LO) / leukotrienes B4 (LTB4) pathways. **Methods** SD rat hepatocytes and Kupffer cells were isolated by in vitro perfusion of type IV collagenase. The hepatic lipid accumulation of liver tissue was detected by oil red O staining. The content of LTB4 in liver tissue were detected by enzyme-linked immunosorbent ELISA. The mRNA and proteins expression of 5-LO and LTB4 receptor type 1 (BLT1) in were detected by RT-PCR and Western blot. **Results** It was observed that the rats of NAFLD model were induced by high-fat-diet with 8 weeks successfully. Compared with the model group, the content of LTB4 were decreased significantly in in the two drug intervention groups ( $P<0.01$ ), as well as the lower expression levels of gene and proteins expression of 5-LO and BLT1 in hepatocytes and Kupffer cells for the

**[收稿日期]**2019-09-29

**[基金项目]**北京中医药大学校级科研项目(2018BUCMXJKY013);深圳市龙岗区医疗卫生科技计划资助项目(20170405190544730)。

**[作者简介]**徐拥建,男,医学博士,副主任医师,主要从事中西医结合防治肝病及恶性肿瘤研究,E-mail:himi@163.com。

varying degrees ( $P<0.01$ ). Compared between two dose groups, the high-dose SBP group showed more significant effects ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). **Conclusion** SBP may play a role in preventing and treating NAFLD by inhibiting the activation of 5-LO/LTB4 pathway in liver cells and Kupffer cells of NAFLD rats, and reducing liver lipid accumulation.

[**Keywords**] Shenling Baizhu Powder; hepatocyte; Kupffer cells; 5-LO; LTB4

近年来,随着生活水平的提高,饮食结构的变化,非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 发病率呈上升趋势,发病年龄也日趋年轻化,已成为我国第一大慢性肝病以及健康普查发现肝脏转氨酶异常的首要病因<sup>[1-4]</sup>。NAFLD 发病机制复杂,现代医学缺乏有效的药物治疗。我们前期研究发现参苓白术散具有显著的降低血脂,缓解肝脏炎症,防治 NAFLD 肝疗效确切,可能在 NFALD 终末防治效应方面发挥多环节、多路径、多靶点的整合治疗作用<sup>[5]</sup>。白三烯 B4 (leukotrienes B4, LTB4) 作为一种经典的促炎脂质中介,必须在 5-脂氧化酶 (5-lipoxygenase, 5-LO) 催化后,经两个 G 藕联蛋白受体-白三烯 B4 受体 (LTB4 receptor type 1, BLT1) 和 BLT2 表达高广谱和高应答的致炎效应<sup>[6]</sup>。研究表明,5-LO、LTB4 和 BLT-1 在代谢综合征如肥胖、胰岛素抵抗等相关疾病中中介了慢性系统性低度炎症的触发和放大过程<sup>[7]</sup>。本研究是在前期研究基础上的进一步探索,通过高脂饲料诱导建立 NAFLD 大鼠模型,旨在从肝细胞、Kupffer 细胞水平,探讨参苓白术散对 NAFLD 大鼠 5-LO、LTB4、BLT1 的影响,以阐释其部分干预作用机制。

## 1 材料

### 1.1 药物

参苓白术散(人参 15 g, 白术 15 g, 茯苓 15 g, 薏苡仁 9 g, 砂仁 6 g, 山药 15 g, 桔梗 6 g, 白扁 12 g, 莲子 9 g, 炙甘草 9 g) 为中药配方颗粒剂, 方药组成及饮片剂量均参照《方剂学》教材<sup>[8]</sup>, 由深圳三九医药股份有限公司生产, 购自广州暨南大学附属第一医院药房。按免煎中药包装说明(如: 人参 1 袋相当于人参饮片 3 g), 换算成 1 剂参苓白术散饮片的实际剂量, 溶于水, 调匀制成混悬液备用。

### 1.2 动物

取 8 周龄健康成年雄性 SD 大鼠 (SPF 级) 80 只, 体质量 (200±20) g, 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司, 动物合格证号 37009200012268, 动物许可

证号 SCXK(鲁)20140007, 饲养于暨南大学动物实验中心, 饲养环境合格证号: SYXK(粤)2017-0174。随机分为 4 组, 每组 20 只。

### 1.3 主要试剂与抗体

大鼠 LTB4 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (GD-DS1584) 来自上海古朵生物科技有限公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 来自美国 Abbkine 公司; 实时荧光定量 PCR 试剂盒 (RR047A) 来自日本 Takara 公司; 兔抗大鼠 Anti-Lysozyme (MA5-32154)、IV 型胶原酶 (17104-019) 均来自 ThermoFisher 公司; Anti-5-LO 抗体 (50-244)、Anti-BLT-1 抗体 (70-465) 均来自美国 Prosci 公司。

### 1.4 主要仪器

Epoch 型酶联免疫检测仪 (美国 BioTeK 公司); ELITE ESP 型流式细胞检测仪 (美国 BECKMAN-COULTER 公司); CFX 96 Touch Deep Well Real-Time PCR 仪 (美国 Bio-rad 公司); Trans-Blot Turbo 型转膜仪 (美国 Bio-rad 公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组及造模

按随机数字表法将大鼠分成 4 组, 每组 20 只。分别为: 正常组、模型组、参苓白术散低剂量组 (10 g/kg) 及高剂量组 (30 g/kg)。参照我们前期研究<sup>[9]</sup>采用高脂饲料 (基础饲料 88%, 食用猪油 10%, 3 号胆盐 0.5%, 胆固醇 1.5%) 喂养 8 周建立 NAFLD 模型。除正常组大鼠以基础饲料喂养, 其他各组均以高脂饲料喂养。按 10 mL/(kg·d) 标准, 各组大鼠灌服相应剂量的中药制剂或实验动物饮用水, 给药剂量按人和动物体表面积折算<sup>[10]</sup>。每日 1 次, 分笼饲养于 18~22 °C 明暗各 12 h 的 SPF 级动物实验室内, 连续 8 周。我们在前期研究<sup>[9]</sup>中确立了低剂量药物组为人临床等效剂量, 高剂量药物组为 3 倍人临床等效剂量。

### 2.2 标本采集

2.2.1 肝组织、血清标本采集 于实验第 8 周 (均禁食不禁水于末次给药 12 h 后) 各组随机选取 10 只

大鼠麻醉后,经腹主动脉采血后处死,取相同部位肝脏若干保存备用。

**2.2.2 肝细胞、Kupffer 细胞的分离和鉴定** 我们前期研究已熟练掌握离体循环灌注IV型胶原酶法提取分离大鼠原代肝细胞、Kupffer 细胞,提取的肝细胞、Kupffer 细胞纯度均在达到 90%以上,完全满足相关实验要求<sup>[59]</sup>。

### 2.3 指标检测

**2.3.1 油红 O 染色后显微镜观察肝组织形态** 肝组织经冰冻切片,厚约 6~8  $\mu\text{m}$ ,行油红 O 染色,甘油封片,光镜下观察肝组织内脂滴分布及病理组织学变化。

**2.3.2 ELISA 法检测肝组织 LTB4** 按照 ELISA 试剂盒说明书检测大鼠肝组织匀浆 LTB4 含量。

**2.3.3 RT-PCR 法检测肝细胞、Kupffer 细胞 5-LO、BLT1 mRNA 相对表达量** 取培养的贴壁细胞,经 4  $^{\circ}\text{C}$ , 10 000 r/min,离心 10 min。弃去上清液,加入 1 mL TRizol 裂解 Kupffer 细胞,提取总 RNA,用微量核酸分光光度计检测总 RNA 浓度,按照试剂盒说明,逆转录为 cDNA。引物序列由上海捷瑞生物工程有限公司设计及合成,选用 GAPDH 为内参基因。5-LO: 正向引物:5'-GTAACCTGAGACGCCAGTGTAG-3', 反向引物:5'-AAGCTATACGCTGTCTG GTGGA-3', 片段长度:126 bp;BLT1: 正向引物:5'-CTTG GCTGCAAACACTGCGGTCTGG-3', 反向引物:5'-CT GCAGAATGCTTGACACTACAG-3', 片段长度:96 bp; GAPDH: 正向引物 5'-TGCACCGATCCGGATCATTG-3', 反向引物:5' GATGCAGTATGCCATTCGC-3', 片段长度:128 bp。依照说明书在冰台上配制 20  $\mu\text{L}$  反应液,反应条件为 90  $^{\circ}\text{C}$ 持续 2 min 预变性;95  $^{\circ}\text{C}$ 持续 15 s 变性;5-LO、BLT1、GAPDH 60  $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s; 60  $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,扩增 40 个循环;再于 95  $^{\circ}\text{C}$ ,持续 15 s,分析溶解曲线。用 Opticon Monitor 3.1 软件整理和分析。设定正常组基因表达水平为 1。以  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  为实验项目的基因表达相对于正常组的变化倍数,计算各组大鼠肝细胞、Kupffer 细胞 5-LO、BLT1 mRNA 的相对表达量。

**2.3.4 Western blot 法印迹法检测大鼠肝细胞、Kupffer 细胞 5-LO、BLT1 蛋白表达** 每 RIPA 裂解液(含 PMSF)1 mL 加入  $5 \times 10^6$  个细胞,待充分裂解后,14 000 r/min,4  $^{\circ}\text{C}$ 下离心 5 min;为避免蛋白降

解,在冰台上操作收集上清液。BCA 法测定蛋白浓度,对样品上样量的终浓度调整为 40~80  $\mu\text{g}$ 。采用 SDS-PAGE 法电泳分离蛋白,湿转膜法将蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜(PVDF)膜后,加入含 5%脱脂奶粉封闭液,常温下平摇 1h,PBS 冲洗液洗膜后,加入提前配制好的一抗稀释液(5-LO 1:1 000 稀释;BLT1 11:1 000 稀释),4  $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育后,再次洗膜除去过量的一抗稀释液,加二抗稀释液(1:5 000)室温孵育 1 h,洗膜后,进行化学发光反应。用 Quantity One 软件分析目的蛋白与内参的灰度值,并将其比值作为蛋白的表达值进行统计分析。

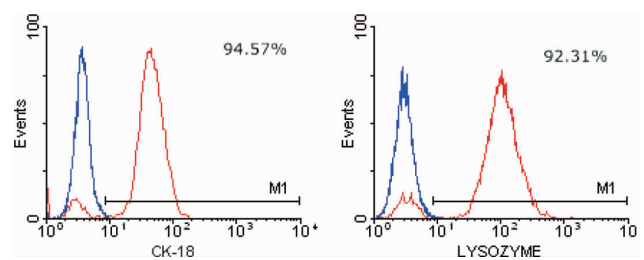
### 2.4 统计分析

采用 SPSS 19.0 软件对所得数据进行统计分析,计量资料用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,多组数据间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),检验水准  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 肝细胞、Kupffer 细胞的纯度鉴定

CK-18 抗体检测肝细胞纯度为 94.57%,Lysozyme 抗体检测 Kupffer 细胞纯度为 92.31%。见图 1。



注:M1 为低浓度标记峰,蓝色对照峰为阴性细胞,红色峰表示需要鉴定的肝细胞、Kupffer 细胞

图 1 FCM 鉴定肝细胞、Kupffer 细胞纯度

### 3.2 肝组织病理学观察

模型组肝细胞肿胀,核质深蓝染色、靠边,胞浆可见大片的红色脂滴,小叶结构破坏,肝索紊乱;正常组肝细胞排列整齐,胞核淡蓝居中,结构正常,胞浆偶见正常散在的红染脂滴;各药物干预组肝组织染色脂滴红染面积及程度较模型组明显缩小和减轻,参苓白术散高剂量组肝脏组织形态最接近于正常组。见图 2。

### 3.3 各组大鼠肝组织 LTB4 含量比较

模型组大鼠肝组织 LTB4 含量较正常组显著升

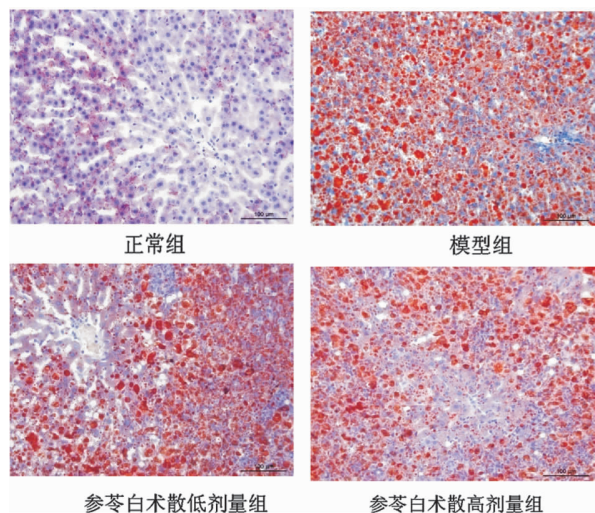


图 2 各组大鼠肝组织病理染色光镜图(油红 O,×200)

高( $P<0.01$ );各药物干预组 LTB4 含量与模型组比较,显著降低( $P<0.01$ ),其中参苓白术散组高剂量与低剂量组间比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠肝组织 LTB4 含量比较( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	LTB4/(pg·mL <sup>-1</sup> )
正常组	66.17±9.87
模型组	154.29±15.85*
参苓白术散低剂量组	121.87±18.40 <sup>△</sup>
参苓白术散高剂量组	98.62±12.32 <sup>△#</sup>

注:与正常组比较,\* $P<0.01$ ;与模型组比较,△ $P<0.01$ ;与参苓白术散低剂量组比较,# $P<0.01$

### 3.4 各组大鼠肝细胞、Kupffer 细胞 5-LO、BLT1 mRNA 相对表达量

与模型组比较,各药物干预组大鼠肝细胞、Kupffer 细胞中的 5-LO、BLT1 mRNA 相对表达量显著下降( $P<0.01$ )。参苓白术散高剂量组与低剂量组比较,大鼠肝细胞、Kupffer 细胞中的 5-LO、BLT1 mRNA 相对表达量下降( $P<0.05, P<0.01$ )。见表 2-3。

表 2 肝细胞 5-LO、BLT-1 mRNA 相对表达量( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	5-LO	BLT1
正常组	1.01±0.13	0.97±0.08
模型组	5.89±0.11*	4.44±1.10*
参苓白术散低剂量组	3.39±0.09 <sup>△</sup>	3.53±0.73 <sup>△</sup>
参苓白术散高剂量组	2.29±0.18 <sup>△#</sup>	2.64±0.76 <sup>△#</sup>

注:与正常组比较,\* $P<0.01$ ;与模型组比较,△ $P<0.01$ ;与参苓白术散低剂量组比较,# $P<0.05, ##P<0.01$

表 3 Kupffer 细胞 5-LO、BLT-1 mRNA 相对表达量( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	5-LO	BLT1
正常组	1.21±0.14	1.01±0.70
模型组	5.13±0.21*	4.56±1.10*
参苓白术散低剂量组	3.63±0.19 <sup>△</sup>	3.31±0.65 <sup>△</sup>
参苓白术散高剂量组	1.98±0.15 <sup>△#</sup>	2.58±0.96 <sup>△#</sup>

注:与正常组比较,\* $P<0.01$ ;与模型组比较,△ $P<0.01$ ;与参苓白术散低剂量组比较,# $P<0.05, ##P<0.01$

### 3.5 各组大鼠肝细胞、Kupffer 细胞 5-LO、BLT1 蛋白表达

与模型组比较,各药物干预组大鼠肝细胞、Kupffer 细胞中的 5-LO、BLT1 蛋白表达水平显著下降( $P<0.01$ )。参苓白术散高剂量组与低剂量组比较,大鼠肝细胞、Kupffer 细胞 5-LO、BLT1 蛋白表达水平下降( $P<0.05, P<0.01$ )。见表 4-5,图 3-4。

表 4 各组大鼠肝细胞 5-LO、BLT-1 蛋白灰度值比值( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

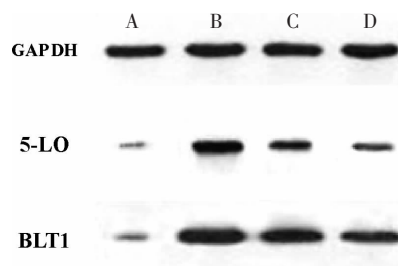
组别	5-LO/GAPDH	BLT1/GAPDH
正常组	0.28±0.04	0.29±0.04
模型组	1.01±0.09*	1.10±0.05*
参苓白术散低剂量组	0.90±0.07 <sup>△</sup>	1.01±0.08 <sup>△</sup>
参苓白术散高剂量组	0.81±0.06 <sup>△#</sup>	0.92±0.07 <sup>△#</sup>

注:与正常组比较,\* $P<0.01$ ;与模型组比较,△ $P<0.01$ ;与参苓白术散低剂量组比较,# $P<0.05, ##P<0.01$

表 5 各组大鼠 Kupffer 细胞 5-LO、BLT1 蛋白灰度值比值( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

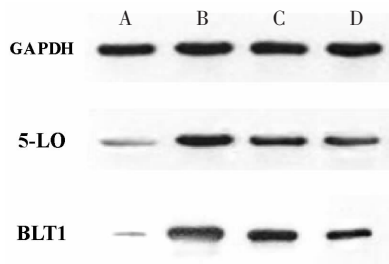
组别	5-LO/GAPDH	BLT1/GAPDH
正常组	0.31±0.03	0.27±0.04
模型组	1.11±0.06*	1.23±0.08*
参苓白术散低剂量组	0.89±0.06 <sup>△</sup>	1.02±0.05 <sup>△</sup>
参苓白术散高剂量组	0.75±0.04 <sup>△#</sup>	0.95±0.06 <sup>△#</sup>

注:与正常组比较,\* $P<0.01$ ;与模型组比较,△ $P<0.01$ ;与参苓白术散低剂量组比较,# $P<0.05, ##P<0.01$



注:A.正常组;B.模型组;C.参苓白术散低剂量组;D.参苓白术散高剂量组

图 3 各组大鼠肝细胞 5-LO、BLT1 蛋白电泳图



注:A.正常组;B.模型组;C.参苓白术散低剂量组;D.参苓白术散高剂量组

图4 各组大鼠 Kupffer 细胞 5-LO、BLT1 蛋白电泳图

## 4 讨论

NAFLD 是指除外酒精和其他明确的肝损伤致病因素,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪性样变为主要特征的一组临床病理综合征,包括非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎及由其引起的肝纤维化、肝硬化。目前,研究者认为其发生发展可能与脂质代谢障碍、胰岛素抵抗,摄入过量果糖,脂肪组织功能紊乱,肠道菌群失调导致炎症、氧化应激、内质网应激有关<sup>[11]</sup>。但其确切的发病机制尚未明确。时至今日,现代医学尚无治疗 NAFLD 的特效药物,对其治疗多以病因治疗为主,如改变生活方式、控制体重及治疗原发病如高脂血症、2 型糖尿病,常常选用胰岛素增敏剂如二甲双胍、罗格列酮、吡格列酮及他汀类调脂药物如阿托伐他汀、普伐他汀等,因有一定的肝毒性,无法长期口服及维持治疗。祖国医学没有脂肪肝这一病名,脂肪肝大致属于“胁痛”“肝著”“肝癖”等病范畴。关于病因病机、治则治法的论述,现代医家认为肝体用失调、脾肾亏虚为其主要特点,痰、湿、浊、瘀、热是其主要病理因素,疾病初期主要治以疏肝理气、健脾和胃;中后期以健脾益肾、化痰散结为主<sup>[12]</sup>。可见健脾法,贯穿了治疗 NAFLD 的始终。参苓白术散出自北宋《太平惠民和剂局方》,具有健脾益气、渗湿止泄的功效。Meta 分析表明<sup>[13]</sup>,参苓白术散治疗 NAFLD 存在其优势。笔者前期研究也证实参苓白术散具有显著的降低血脂,缓解肝脏炎症,防治脂肪肝疗效确切<sup>[9]</sup>。本次实验是对参苓白术散防治 NAFLD 作用机制的进一步探索。

肝脏的脂肪蓄积主要发生在肝细胞,而位于肝血窦内的肝脏 Kupffer 细胞是人体内最大的固定巨噬细胞群,约占肝脏所有细胞总数的 15%,具有吞噬微生物、清除内毒素,摄取抗原并激发获得性免疫、

释放炎症因子,促发肝脏炎症反应的作用<sup>[14-15]</sup>。白三烯(leukotrienes,LTs)是目前已知在炎症损伤中活性最强的趋化因子,在介导炎症细胞的黏附、浸润以及促炎因子的释放过程中发挥着重要的作用<sup>[16]</sup>。5-LO 是催化花生四烯酸转化成 LTs 的关键酶介<sup>[17]</sup>。

LTB<sub>4</sub>作为 5-LO 合成的主要产物,主要在肝组织中充分表达。研究发现,在高脂饮食的小鼠肝脏和肌肉组织中 LTB<sub>4</sub> 表达显著增加,其增加可促进炎症因子,介导炎症反应,是组织炎症浸润的一个关键中介<sup>[18-19]</sup>。当机体出现脂质代谢紊乱后,5-LO 常在炎症激活的巨噬细胞、肥大细胞、树突状细胞中大量表达,在单核细胞转化为组织细胞的过程中,5-LO 表达上调,但在非炎症阶段,其含量无明显变化。研究表明,抑制 5-LO 的表达能促使 Kupffer 细胞程序性凋亡,从而减轻小鼠肝损伤<sup>[20]</sup>。因此通过减少 5-LO 的表达,对抑制肝脏疾病的发病及进展,可能起到治疗作用<sup>[21]</sup>。在高脂饲料诱导的非酒精性脂肪性肝炎大鼠中,肝组织 LTB<sub>4</sub> 分泌增加,其催化酶 5-LOmRNA 及蛋白表达水平显著上调,其受体 BLT1 亦上调,表明肝脏脂肪变程度及炎症损伤的进展程度与肝内 5-LO、BLT1 的表达呈正相关<sup>[22-23]</sup>。可见,肝内 5-LO、LTB<sub>4</sub>、BLT1 的表达水平,与肝脂肪变的严重程度呈正相关。本次实验拟通过肝细胞、Kupffer 细胞视角,探讨参苓白术散对 NAFLD 大鼠 5-LO/LTB<sub>4</sub> 通路的影响。

本实验病理学结果表明,高脂饲料喂养 8 周建立大鼠 NAFLD 模型存在显著的脂质代谢紊乱,参苓白术散可不同程度地降低 NAFLD 大鼠肝组织 LTB<sub>4</sub> 含量,下调肝细胞、Kupffer 细胞 5-LO、BLT1 mRNA 及蛋白表达水平,以高剂量参苓白术散组作用最为显著。参苓白术散在改善肝脏脂肪沉积,可能与剂量有一定的相关性;初步揭示参苓白术散可能是通过抑制 NAFLD 大鼠 5-LO/LTB<sub>4</sub> 通路激活,发挥抗 NAFLD 的药理作用。当然,参苓白术散对 NAFLD 的防治也可能是多方面、多层次、多环节、不同药理作用的结果,因此有必要对参苓白术散防治 NAFLD 的具体机制进行进一步的研究和探讨。

## 参考文献

- [1] ANDRONESCU C I, PURCAREA M R, BABES P A. Nonalcoholic fatty liver disease: epidemiology, pathogenesis and thera-

- peutic implications[J]. *Journal of Medicine and Life*, 2018, 11(1): 20-23.
- [2] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组,中国医师协会脂肪肝肝病专业委员会.非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018新版)[J].*中华肝脏病杂志*,2018,26(3):195-203.
- [3] WANG F S, FAN J G, ZHANG Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China[J]. *Hepatology*, 2014, 60(12): 2099-2108.
- [4] FAN J G, KIM S U, WONG V W. New trends on obesity and NAFLD in Asia[J]. *Journal of Hepatology*, 2017, 67(4): 862-873.
- [5] GONG X W, XU Y J, YANG Q H, et al. Effect of soothing Gan (Liver) and invigorating Pi (Spleen) recipes on TLR4-p38 MAPK pathway in kupffer cells of non-alcoholic steatohepatitis rats[J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2019, (3): 216-224.
- [6] ZHANG Y, OLSON R M, BROWN C R. Macrophage LTB4 drives efficient phagocytosis of *Borrelia burgdorferi* via BLT1 or BLT2[J]. *Journal of Lipid Research*, 2017, 58(3): 494-503.
- [7] SPITE M, HELLMANN J, TANG Y, et al. Deficiency of the leukotriene B4receptor, BLT-1, protects against systemic insulin resistance in diet-induced obesity [J]. *Journal of immunology*, 2011,187(4):1942-1949.
- [8] 段富津.方剂学[M].上海:上海科学技术出版,1995:114-79.
- [9] 徐拥建,杨钦河,韩莉,等.疏肝健脾方药对NAFLD大鼠肝细胞SREBP-1c、SCD-1 mRNA及蛋白表达的影响[J].*中药材*,2014,37(1):83-89.
- [10] 施新猷.现代医学实验动物学[M].北京:人民军医出版社. 2000: 334.
- [11] COHEN J C, HORTON J D, HOBBS H H. Human fatty liver disease: old questions and new insights[J]. *Science*, 2011, 332(6037): 1519-1523.
- [12] 中华中医药学会脾胃病分会.非酒精性脂肪性肝病中医诊疗专家共识意见(2017) [J].*中医杂志*,2017,58(19):1707-1708.
- [13] 王珏云,张昇卓,邹金桥,等.参苓白术散治疗非酒精性脂肪肝随机对照试验 Meta 分析[J].*辽宁中医药大学学报*,2017,19(9):110-114.
- [14] BYRNE C D, TARGHER G. NAFLD: A multisystem disease[J]. *Journal of Hepatology*, 2015, 62(1): S47-S64.
- [15] DUARTE N, COELHO I C, PATARRAO R S, et al. How Inflammation Impinges on NAFLD: A Role for Kupffer Cells[J]. *Biomed Research International*, 2015,2015: 984578.
- [16] BRUNO F, ERRICO S, PACE S, et al. Structural insight into the optimization of ethyl 5-hydroxybenzo[g]indol-3-carboxylates and their bioisosteric analogues as 5-LO/m-PGES-1 dual inhibitors able to suppress inflammation[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018,155: 946-960.
- [17] SORGI C A, ZARINI S, MARTIN S A, et al. Dormant 5-lipoxygenase in inflammatory macrophages is triggered by exogenous arachidonic acid[J]. *Scientific Reports*, 2017,7(1): 10981.
- [18] TITOS E, CLARIA J, PLANAGUMA A, et al. Inhibition of 5-lipoxygenase induces cell growth arrest and apoptosis in rat Kupffer cells: implications for liver fibrosis[J]. *The FASEB Journal*, 2003,17: 1745-1747.
- [19] LI P P, OH D Y, BANDYOPADHYAY G, et al. LTB4 promotes insulin resistance in obese mice by acting on macrophages, hepatocytes and myocytes[J]. *Nature Medicine*, 2015, 21(3): 239-247.
- [20] TITOS E, CLARIA J, PLANAGUMA A, et al. Inhibition of 5-lipoxygenase-activating protein abrogates experimental liver injury: Role of Kupffer cells[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2005, 78(4): 871-878.
- [21] NADARAJAN K, BALARAM P, KHOO B Y. MK886 inhibits the pioglitazone-induced anti-invasion of MDA-MB-231 cells is associated with PPAR $\alpha/\gamma$ , FGF4 and 5LOX[J]. *Cytotechnology*, 2016, 68(5): 1771-1787.
- [22] 李璐,马春华,李珊珊,等.5-脂氧化酶在急性肝衰竭大鼠中的表达变化及意义[J].*北京医学*,2013,35(12):1007-1010.
- [23] 朱葛丽,臧淑妃,娄国强,等.5-脂氧化酶通路在非酒精性脂肪性肝炎中的作用和机制[J].*中国现代医生*,2016,54(28):35-38.

(本文编辑 杨 璞)