

荷叶生物碱对脂肪变性HepG2细胞脂质积聚的影响

樊洁敏, 孙静悦, 李婷婷, 蒋益虹*

浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江 杭州
Email: fjmin09252014@163.com, *yhjiang6@163.com

收稿日期: 2021年3月7日; 录用日期: 2021年4月8日; 发布日期: 2021年4月14日

摘要

本文以油酸诱导HepG2细胞脂肪变性构建非酒精脂肪肝(Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)体外细胞模型, 通过测定细胞存活率、胞内TG含量、胞内脂滴油红O染色情况和脂质代谢相关基因mRNA表达研究荷叶生物碱提取物(Lotus leaf extract, LLE)对NAFLD脂质积聚的影响。结果显示, LLE对脂肪变性HepG2细胞的 IC_{50} 为73.77 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 在无细胞毒性的浓度下, LLE可明显降低脂肪变性HepG2细胞中甘油三酯(Triglyceride, TG)含量和脂滴积聚程度, 且高浓度作用更为明显。进一步研究发现, LLE对脂肪变性HepG2细胞中SREBP-1c和ACC α 的mRNA表达影响不大, 但能显著上调脂肪变性HepG2中PPAR α 、CPT-1和ACOX1的mRNA表达水平($p < 0.05$)。综上, LLE可抑制脂肪变性HepG2细胞增殖, 降低细胞中TG含量和脂滴积聚, 且该作用与TG的 β -氧化分解有关。

关键词

荷叶生物碱, 脂质积聚, HepG2细胞, 非酒精性脂肪肝

Effect of Alkaloid Extract from Lotus Leaf on Lipid Accumulation in HepG2 Cell

Jiemin Fan, Jingyue Sun, Tingting Li, Yihong Jiang*

College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang
Email: fjmin09252014@163.com, *yhjiang6@163.com

Received: Mar. 7th, 2021; accepted: Apr. 8th, 2021; published: Apr. 14th, 2021

Abstract

In order to study the effect of lotus leaf extract (LLE) on liver fat accumulation induced by Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in HepG2 cells, we established an in vitro cell model of NAFLD induced by oleic acid. The cell viability, intracellular TG content, intracellular lipid droplet staining with Oil Red O, and the expression of lipid metabolism related genes mRNA were measured to study the effect of Lotus leaf extract (LLE) on lipid accumulation in HepG2 cells. The results showed that the IC_{50} of LLE on HepG2 cells was 73.77 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Under non-toxic concentrations, LLE significantly reduced the TG content and lipid droplet accumulation in HepG2 cells, and the effect was more obvious at high concentrations. Further study found that LLE had little effect on the mRNA expression of SREBP-1c and ACC α in HepG2 cells, but it significantly up-regulated the mRNA expression of PPAR α , CPT-1 and ACOX1 in HepG2 cells ($p < 0.05$). In conclusion, LLE can inhibit the proliferation of HepG2 cells and reduce the TG content and lipid droplet accumulation, and this effect is related to the β -oxidation of TG.

*通讯作者。

文章引用: 樊洁敏, 孙静悦, 李婷婷, 蒋益虹. 荷叶生物碱对脂肪变性 HepG2 细胞脂质积聚的影响[J]. 食品与营养科学, 2021, 10(2): 71-79. DOI: 10.12677/hjfn.2021.102010

coholic fatty liver disease, oleic acid-induced HepG2 cells was established and cell viability, TG contents and staining of lipid droplet and the expression of lipid metabolism related genes mRNA were detected. The results showed that the IC_{50} of LLE on oleic acid-induced HepG2 cells were 73.77 $\mu\text{g}/\text{mL}$. LLE significantly reduced the content of TG and the lipid droplets in oleic acid-induced HepG2 cells. LLE had little effect on the mRNA expression of SREBP-1c and ACC, while it significantly increased the mRNA expression of PPAR α , CPT-1 and ACOX1 in oleic acid-induced HepG2. It is concluded that LLE is effective on inhibiting on cell viability and to reduce lipid accumulation in oleic acid-induced HepG2 cells, which is more related to the up-regulation of lipid β -oxidative.

Keywords

Lotus Leaf Alkaloid, Lipid Accumulation, HepG2 Cell, Nonalcoholic Fatty Liver Disease

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

非酒精脂肪肝(Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一类以肝脏脂肪变性 $\geq 5\%$ 为特征的常见肝脏代谢综合疾病, 在全球范围内的发病率约为 25%, 造成了严重的医疗和经济负担[1]。流行病学和基础研究表明, 调节脂质代谢紊乱对防治 NAFLD 具有重要意义[2]。目前, 具有脂质调节功效的天然产物成分因安全性高、疗效明显的优势已成为研究热点。

荷叶为临床中常用的中草药, 已被列入药食同源的名录[3]。现代医学广泛将荷叶应用于干预肥胖症和高脂血症[4]。脂脉康胶囊、降脂宁颗粒、荷丹颗粒等荷叶复方制剂均具有一定的减肥降脂的疗效[5] [6]。越来越多研究证明荷叶生物碱是荷叶中发挥调脂功效的主要活性物质, 可抑制体外脂肪酶[7]、抑制体外脂肪细胞增殖分化[8]和降低高脂膳食诱导动物模型的血脂水平, 缓解肝脏损伤和代谢紊乱, 改善肝脏脂肪性病变, 对 NAFLD 具有一定的防治作用[9] [10] [11] [12] [13]。例如, 护肝清脂片是由荷叶、泽泻、山楂等六味中药组成, 在临床上主要用于脂肪肝的防治, 能明显改善非酒精性脂肪肝模型大鼠的肝脂数, 降低血脂和增强机体抗氧化能力, 其中荷叶碱含量为 0.15 mg/g [14]。但目前荷叶生物碱对 NAFLD 防治相关研究集中在体内动物模型上, 与动物模型相比, 以脂肪酸诱导人肝癌细胞 HepG2 构建 NAFLD 体外细胞模型的方法具有造模操作简单、周期短和成功率高的优点, 可模拟肝细胞脂质积聚, 肝脏脂肪变性的特点[15] [16] [17]。本实验通过油酸诱导 HepG2 建立 NAFLD 的体外细胞模型, 研究荷叶生物碱提取物(LLE)对脂肪变性 HepG2 脂质积聚的影响并探讨可能机制, 以期为荷叶防治 NAFLD 和相关产品的研发提供一定理论基础。

2. 材料与方法

2.1. 试剂与仪器

材料: 人肝癌细胞 HepG2, 购于上海中科院细胞库; 荷叶, 采自浙江省建德市; RPMI1640 培养基, 美国 Hyclone 公司; 胰蛋白酶、青霉素 - 链霉素混合液、RIPA 细胞裂解液, Biosharp 公司; 油酸, 分析纯, 上海麦克林公司; 四甲基偶氮唑蓝(MTT)、饱和油红 O 染色液, 北京索莱宝科技有限公司; 血清白蛋白(BSA), 大连美伦生物技术有限公司; 非诺贝特(fenofibrate, FF), 浙江大学校医院; TG 试剂盒, 南

京建成生物工程研究所; Trizol 试剂、逆转录试剂盒 Prime Script TM、实时荧光定量 PCR 试剂盒 TB Green Premix Ex TaqTMII, TaKaRa 公司;

仪器: CKX41GF 型倒置显微镜, 日本奥林巴斯有限公司; Eon 酶标仪, 美国伯腾仪器有限公司; 25 cm² 细胞培养瓶、96 孔、6 孔细胞培养板, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Thermo Scientific Nanodrop 2000 微量核酸蛋白分析仪, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司

2.2. 方法

2.2.1. 荷叶生物碱提取物的制备[7]

采用酸性乙醇超声法制备荷叶生物碱提取物(LLE): 荷叶洗净后在 70℃ 烘干, 粉碎后过 60 目筛, 用塑料袋密封包装, 置于 -20℃ 保藏备用。称取适量荷叶粉末, 用 75% 酸性乙醇(pH = 5)作为浸提溶剂, 料液比为 1:43, 提取温度为 63℃, 超声提取功率为 410 W, 提取 20 min, 减压抽滤除去滤渣, 将滤液旋转蒸发至干后得荷叶醇提物。用 1% 盐酸水溶液将其溶解, 加入 1% NaOH 溶液调整 pH 至 11, 再次减压过滤得到滤液, 用氯仿反复萃取, 将得到的氯仿层旋蒸至干后得 LLE。

2.2.2. 细胞培养

将 HepG2 细胞培养于含有 10% 胎牛血清、1% 青霉素 - 链霉素混合液的 DMEM 高糖完全培养基中, 置于 37℃, 5% CO₂ 环境中培养。待细胞长至 80%~90% 时进行消化传代。

2.2.3. 脂肪变性 HepG2 细胞模型的建立

参考刘畅[16]的方法制备得到 10 mmol/L 的油酸造模储备液。用 DMEM 高糖培养基稀释储备液至终浓度为 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mmol/L 的油 OA 诱导液, 分别培养 HepG2 细胞 24 h。用 MTT 法测定细胞增殖活性, 油红 O 染色和胞内 TG 含量测定评价胞内脂质积聚情况, 筛选建立脂肪变性 HepG2 的最佳油酸浓度。

2.2.4. LLE 对脂肪变性 HepG2 细胞细胞增殖的影响

采用 MTT 法检测不同浓度的 LLE 对 HepG2 细胞造模前后细胞增殖的影响。设置对照组(只添加培养基)、油酸造模组(600 μmol/L)、油酸(600 μmol/L) + 不同浓度 LLE 组。

2.2.5. LLE 对脂肪变性 HepG2 脂质积聚的影响

采用对脂肪变性 HepG2 细胞生长无影响的 LLE 浓度进行实验。设置对照组(CK)、油酸造模组(600 μmol/L)、油酸(600 μmol/L) + LLE 组(6.14 μg/mL、12.28 μg/mL)和油酸(600 μmol/L) + 阳性药物 FF 组(3.61 μg/mL)。采用的油红 O 染色和的胞内 TG 含量测定方法评价 LLE 对脂肪变性 HepG2 细胞脂质积聚的影响。

2.2.6. MTT 法测定细胞存活率

收集对数期的细胞, 将细胞接种于 96 孔板中, 细胞悬液浓度为 5×10^4 个/mL, 5000 个/孔, 每孔加 100 μL。待细胞贴壁后, 按照油酸造模实验(2.2.3)或药物干预实验(2.2.4)设置分组培养 24 h。结束后吸去培养基, 避光加入 MTT 终浓度为 0.5 mg/mL 的培养基, 37℃ 反应 4 h。反应结束后取出 96 孔板, 小心吸取孔内培养基, 加入 DMSO 150 μL, 室温振摇 10 min, 待紫色结晶物充分溶解后, 酶标仪 570 nm 下测定 OD 值。计算细胞存活率。存活率 = (A 实验组 - A 空白组)/(A 对照组 - A 空白组) × 100。

2.2.7. 油红 O 染色及 TG 含量测定

收集对数期的 HepG2 细胞, 将细胞接种于 6 孔板中, 细胞悬液浓度为 2.5×10^5 个/mL, 5×10^5 个/孔, 每孔加 2 mL, 置于 37℃, 5% CO₂ 环境中过夜培养。按照油酸造模实验(2.2.3)或药物干预实验(2.2.4)设置

分组培养 24 h。结束后吸去培养基,加入预热的 PBS 1 mL 清洗 3 次,每次 2 min。加入 4% 多聚甲醛 1 mL, 37℃ 固定 30 min。加入 PBS 1 mL 清洗 3 次。60% 异丙醇 1 mL 浸洗 30 s, 加入 PBS 清洗 1 次。避光条件下加入油红 O 工作液 1 mL, 室温避光放置 30 min, PBS 清洗 2 次。加入 60% 异丙醇 1 mL 进行分色 20 s, 重蒸水清洗 2 次。加入苏木素 500 μ L 染色 4 min, 自来水洗 3 次。显微镜下观察油滴染色情况。细胞内 TG 含量按照试剂盒说明书检测

2.2.8. 实时荧光定量 PCR 测定 mRNA 表达

采用 Trizol 法提取 HepG2 细胞总 RNA, 使用 Nanodrop2000 仪器测定 260/280 nm 波长处吸光度, 两者比值在 1.8~2.1 之间符合 RNA 纯度要求。按照逆转录试剂盒说明书先去除基因组 DNA 反应, 后将 RNA 逆转录为 cDNA 于 20 μ L 反应体系中。按照荧光定量试剂盒说明书进行实时荧光定量 PCR 步骤。采用 QuantStudio3qRT-PCR 仪进行 PCR 扩增。阶段一: 预变性, 95℃, 30 s, 1 个循环; 阶段二: PCR 反应, 95℃, 5 s 至 60℃, 34 s, 40 个循环。产物经熔解曲线和扩增曲线确认特异性, 应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 RNA 相对表达量。各引物序列详见表 1 所示:

Table 1. Real-time fluorescence quantitative PCR primer sequences

表 1. 实时荧光定量 PCR 引物序列

基因	引物序列
SREBF1	上游: CGGAGCCATGGATTGCACTTT (Tm = 61.56℃)
	下游: AATGTGGCAGGAGGTGGAGA (Tm = 60.64℃)
ACC α	上游: TGCCACCCTGAGGTCTTTTT (Tm = 59.44℃)
	下游: GTTCAGCTCCAGAGGTTGGG (Tm = 60.32℃)
CPT1A	上游: GTTCTCTTGCCTGAGACGG (Tm = 60.39℃)
	下游: TTTCCAGCCCAGCACATGAA (Tm = 60.18℃)
PPAR α	上游: CGGATCGAGAGAGGGGGTAG (Tm = 60.61℃)
	下游: TTCCCAGCTGGACTGAGGTT (Tm = 60.77℃)
ACOX11	上游: ACCTCGGTCGGTGCTTACTT (Tm = 60.18℃)
	下游: CTCGGGAAAGGAGGGAGGTC (Tm = 60.33℃)
β -actin	上游: CCACCATGTACCCTGGCATT (Tm = 59.13℃)
	下游: CGGACTCGTCATACTCTGTC (Tm = 60.18℃)

2.2.9. 数据处理

数据统计采用 SPSS17.0 和 GraphPad Prism8 统计学软件进行, 采用均数 \pm 标准差表示, IC₅₀ 计算采用 GraphPad Prism8 中的非线性回归最小二乘法拟合分析, 多组间比较采用 one-way ANOVA 单因素方差分析, $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3. 结果与分析

3.1. 脂肪变性 HepG2 细胞模型构建

不同浓度的油酸诱导液处理 HepG2 细胞 24 h 后对细胞存活率和细胞内 TG 含量的影响如表 2 所示。由下表可知, 浓度在 400~600 μ mol/L 范围内可小幅度促进 HepG2 细胞生长。800 μ mol/L 的油酸造模液对 HepG2 细胞增殖产生抑制, 存活率为 83.05% ($p < 0.05$)。在 0~1000 μ mol/L 范围内, HepG2 细胞内

TG 含量随着油酸造模液浓度增加而上升,600 $\mu\text{mol/L}$ 油酸处理后 HepG2 细胞内 TG 含量约为对照组(不加油酸)的 3 倍($p < 0.05$)。但是油酸浓度达到 1000 $\mu\text{mol/L}$ 时, TG 含量较 800 $\mu\text{mol/L}$ 油酸处理无显著性变化。

Table 2. Effects of different concentrations of oleic acid on cell viability and TG content in HepG2

表 2. 不同浓度油酸对 HepG2 细胞生长和 TG 含量的影响

	浓度($\mu\text{mol/L}$)	细胞存活率/%	TG 含量($\mu\text{g}/\text{mg pro}$)
油酸造模液	0	100.00 \pm 5.60 ^a	49.94 \pm 11.10 ^c
	200	95.00 \pm 4.36 ^{a,b}	80.49 \pm 6.32 ^c
	400	100.00 \pm 1.46 ^a	137.92 \pm 9.99 ^b
	600	109.03 \pm 3.40 ^a	164.16 \pm 9.84 ^b
	800	83.05 \pm 1.60 ^b	207.50 \pm 14.96 ^a
	1000	65.92 \pm 4.68 ^c	209.99 \pm 16.84 ^a
	1200	60.45 \pm 3.70 ^c	—

同列数据后的不同小写字母表示在 $p < 0.05$ 水平差异具有统计学意义。

采用油红 O 染色法观察胞内脂滴形成情况。如图 1 可知,无油酸处理的 HepG2 细胞边缘清晰,核膜完整,胞内未见红色脂滴。油酸造模液处理后,胞内出现红色脂滴。随着造模液浓度增加, HepG2 细胞内的脂滴的大小和数量均显著增加。600 $\mu\text{mol/L}$ 的油酸造模液处理 HepG2 细胞发生明显的脂肪变性,与 TG 含量结果吻合。综合细胞存活率、TG 含量和脂滴形成的结果,本实验确定以 600 $\mu\text{mol/L}$ 油酸培养 HepG2 细胞 24 h 作为建立 NAFLD 体外细胞模型的方法。此建模方式与文献记载基本吻合[18][19]。

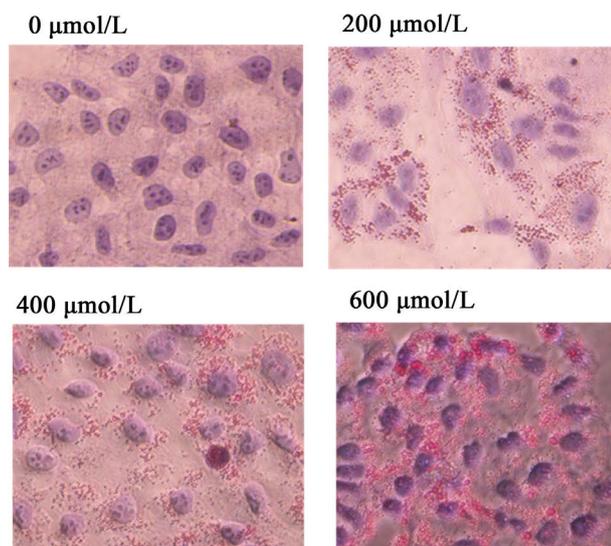


Figure 1. Effects of different concentrations of oleic acid on steatosis in HepG2 ($\times 400$)

图 1. 不同浓度油酸对 HepG2 细胞内脂滴形成的影响($\times 400$)

3.2. LLE 对脂肪变性 HepG2 细胞生长的影响

LLE 对脂质变性 HepG2 细胞存活率如图 2 所示。与空白组(不加任何处理)相比,油酸单独处理促进

HepG2 细胞生长, 存活率为空白组的 112.50% ($p < 0.05$)。当油酸与 LLE 共同处理后, 细胞生长先受到促进, 当 LLE 浓度为 24.56 $\mu\text{g/mL}$, 细胞存活率为空白组的 90.96% ($p < 0.05$), 细胞增殖开始受到抑制。随着浓度的增加, LLE 对细胞的抑制作用逐渐增强。经过软件分析可知 LLE 对脂肪变性 HepG2 细胞的 IC_{50} 为 73.77 $\mu\text{g/mL}$ 。因此, 选择对细胞增殖无影响的 LLE 浓度, 即 6.14 $\mu\text{g/mL}$ 、12.28 $\mu\text{g/mL}$ 作为研究脂肪变性 HepG2 细胞脂质积聚的给药浓度。

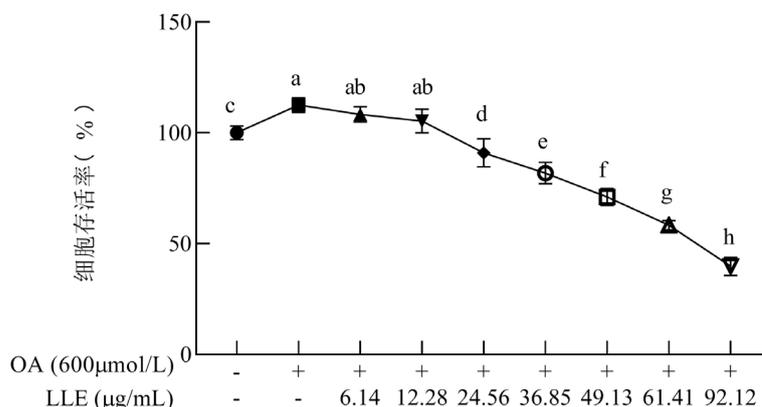


Figure 2. Effects of different concentrations of LLE on cell viability in HepG2
图 2. 不同浓度 LLE 和对脂肪变性 HepG2 细胞存活率的影响

3.3. LLE 对脂肪变性 HepG2 脂质积聚的影响

LLE 对脂肪变性 HepG2 中 TG 含量的影响如图 3 所示。油酸造模后 HepG2 的 TG 含量为 147.05 ± 16.82 $\mu\text{g/mg pro}$, 约为 CK 组的 2 倍。浓度为 6.14 $\mu\text{g/mL}$ 和 12.28 $\mu\text{g/mL}$ 的 LLE 处理使 TG 含量分别下降 20.35% 和 32.51% ($p < 0.05$), 与阳性药物 3.61 $\mu\text{g/mL}$ 的非诺贝特处理效果接近。由此可见, LLE 可降低脂肪变性 HepG2 细胞中 TG 的含量, 且高浓度作用更强。LLE 对脂肪变性 HepG2 细胞内脂滴形成的影响如图 4 所示。观察可知, 油酸造模组细胞周围出现明显的脂滴, 密集环绕在细胞边缘。与油酸组相比, 阳性药物处理后, 脂滴明显减少。LLE 处理组的脂滴密度减少, 且高浓度的药物作用更加明显。油红 O 染色结果与 TG 含量检测结果基本一致。

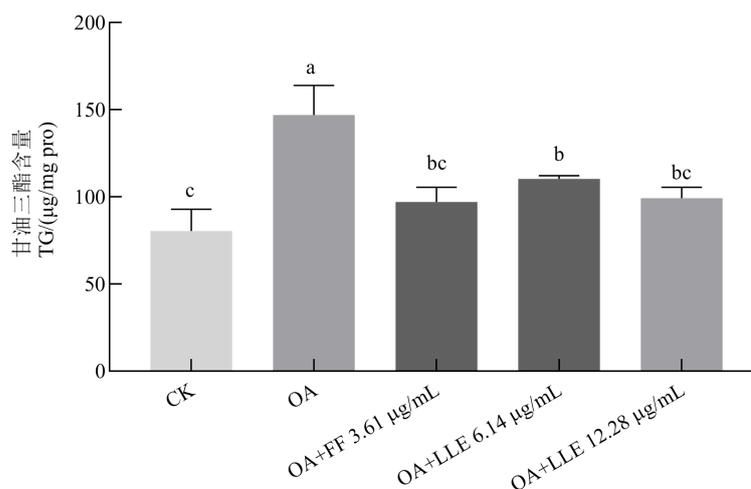


Figure 3. Effects of different concentrations of LLE on TG content in OA cultivated HepG2
图 3. 不同浓度 LLE 对脂肪变性 HepG2 细胞 TG 含量的影响

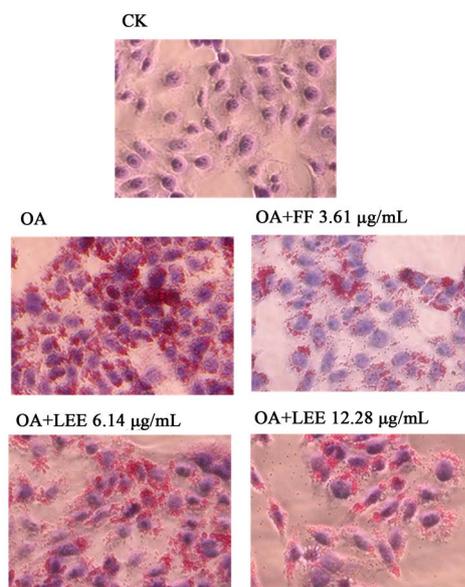


Figure 4. Effects of different concentrations of LLE on steatosis in OA cultivated HepG2 ($\times 400$)
图 4. LLE 对脂肪变性 HepG2 细胞内脂滴形成的影响($\times 400$)

3.4. LLE 对脂肪变性 HepG2 细胞脂质代谢相关基因 mRNA 表达影响

为进一步探究 LLE 降低脂肪变性 HepG2 细胞中脂质积聚的机制, 采用实时荧光定量 PCR 检测高浓度 LLE 作用下脂肪变性 HepG2 细胞脂质代谢相关基因 mRNA 水平情况, 结果如图 5 和图 6 所示。与 CK 组相比, 油酸造模组的脂质合成相关基因 SREBP-1c 和 ACC α 的 mRNA 水平分别上调 120.41% ($p < 0.05$) 和 70.87% ($p < 0.05$), 脂质分解相关基因 PPAR α 、CPT-1 和 ACOX1 的 mRNA 水平分别下调 40.64% ($p > 0.05$)、33.43% ($p < 0.05$) 和 39.19% ($p < 0.05$), 由此可知脂肪变性 HepG2 细胞中脂质代谢相关基因表达紊乱。12.28 $\mu\text{g/mL}$ 的 LLE 处理组的 SREBP-1c 和 ACC α 的 mRNA 水平相较于油酸组无显著差异, 但脂质分解基因 PPAR α 、CPT-1 和 ACOX1 的 mRNA 水平相较油酸组分别上调 167.45% ($p < 0.05$)、76.21% ($p < 0.05$) 和 190.10% ($p < 0.05$)。由此可知, LLE 可上调脂质变性 HepG2 细胞中脂质分解相关基因的表达, 但对脂质合成相关基因的表达影响不大。

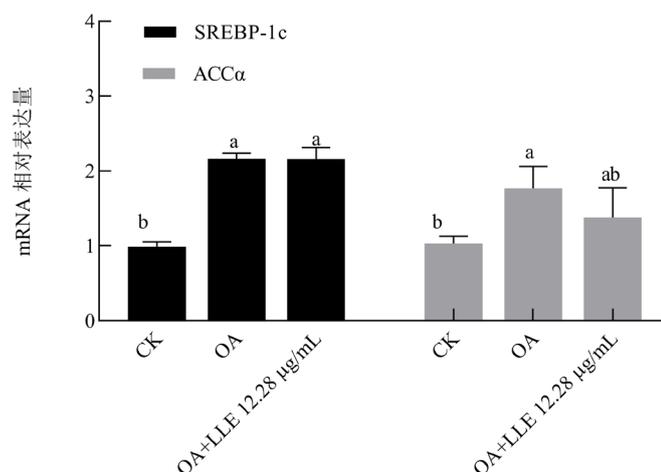


Figure 5. Effects of LLE on mRNA levels of lipogenesis related genes in oleic acid cultivated HepG2
图 5. LLE 对脂肪变性 HepG2 脂质合成相关基因 mRNA 水平的影响

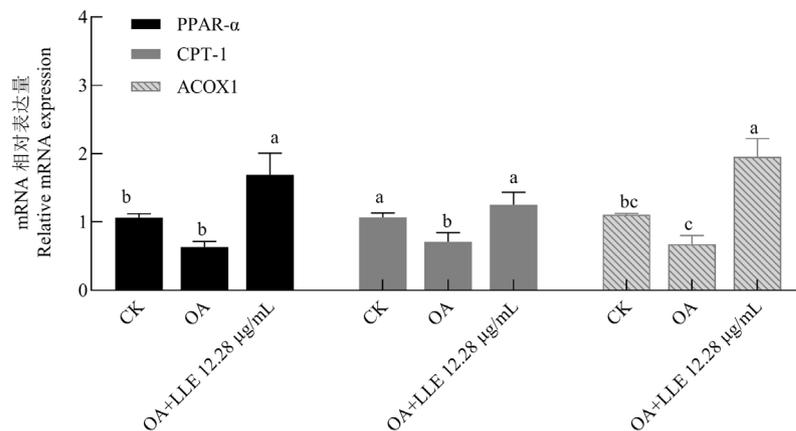


Figure 6. Effects of LLE on mRNA levels of lipidolysis related genes in oleic acid cultivated HepG2
图 6. LLE 对脂肪变性 HepG2 脂质分解相关基因 mRNA 水平的影响

4. 讨论

本研究基于脂肪变性 HepG2 细胞模型研究荷叶生物碱粗体物(LLE)对非酒精性脂肪肝脂质积聚的影响。LLE 对脂肪变性 HepG2 细胞增殖的影响为低浓度促进,高浓度抑制,IC₅₀为 73.77 μg/mL。脂质积聚是肝细胞脂质代谢紊乱的表现[20]。SREBP-1c 是肝脏脂质合成的重要调控因子,参与 TG 的合成酶基因表达的调控,如 ACCα、FAS 等,其中 ACCα 是 TG 合成的关键限速酶[21]。脂质的分解主要涉及脂质的转运和线粒体氧化的过程。CPT-1 将长链脂酰油酸从胞质中转移到线粒体中,ACOX1 主要涉及到脂肪酸的氧化及到 ACOX1 [22]。PPARα 是过氧化物酶体增生激活受体家族中的一员,可抑制 SREBP-1c 从而影响 FAS 和 CPT-1 的表达,抑制 TG 的合成并促进脂质 β 氧化[23]。本实验中 LLE 可降低脂肪变性 HepG2 细胞内 TG 含量和脂滴积聚程度,高浓度效果更为明显,进一步检测脂质代谢相关基因 mRNA 表达水平发现,LLE 对 TG 合成相关基因 SREBP-1c 和 ACCα 的 mRNA 表达影响不大,但可显著增加 TG 分解相关基因 PPARα、CPT-1 和 ACOX1 的 mRNA 表达。相似的是,Zhang 等人[12]发现荷叶碱单体通过上调 PPARα/PGC1 通路改善肝细胞的脂肪变性,促进肝脏脂肪 β-氧化相关基因的表达,显著降低高血脂小鼠肝细胞中血脂水平。袁洋[10]通过 SD 大鼠非酒精性脂肪肝模型和代谢组学方法研究发现荷叶生物碱能调整造模后 VLDL 的合成和分泌障碍等脂质代谢紊乱,降低外周血中血脂含量,同时可以修复肝脏能量代谢紊乱,缓解脂质过氧化损伤和氧化应激,从而抑制大鼠炎症反应和肝脏脂肪性病变。

综上,荷叶生物碱提取物可抑制脂肪变性 HepG2 细胞增殖,降低细胞中 TG 含量和脂滴积聚作用,该作用与 TG 的 β-氧化分解有关。本研究为荷叶生物碱防治 NAFLD 提供了一定的理论基础,同时对其在食品、保健品及药品的开发应用方面具有参考价值。

基金项目

药食同源功能健康食品开发——菊花、黄精及荷叶功能评价与健康食品开发。项目号: 2021C02020。

参考文献

- [1] Younossi, Z.M., Koenig, A.B., Abdelatif, D., et al. (2016) Global Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease—Meta-Analytic Assessment of Prevalence, Incidence, and Outcomes. *Hepatology*, **64**, 73-84. <https://doi.org/10.1002/hep.28431>
- [2] Longo, D.L., Diehl, A.M. and Day, C. (2017) Cause, Pathogenesis, and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *The New England Journal of Medicine*, **377**, 2063-2072. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1503519>

- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [4] 程婷婷, 原新博, 惠小涵, 等. 荷叶生物碱成分及其调脂机制研究进展[J]. 中草药, 2019(8): 1998-2003.
- [5] 范成太, 闫克里, 赵丽, 等. 高效液相色谱法测定降脂宁颗粒中药材荷叶中荷叶碱的含量[J]. 中国药物与临床, 2007, 7(12): 950-951.
- [6] 朱良辉, 汪军, 尧享华. 高效液相色谱法测定荷丹颗粒中荷叶碱的含量[J]. 江西中医学院学报, 2005, 17(6): 38.
- [7] 范婷婷. 荷叶生物碱类物质降脂减肥活性研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [8] 刘晓琴. 荷叶生物碱单体的分离纯化及其对 3T3-L1 前脂肪细胞作用的构效关系研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [9] 李纯伟, 张秋菊. 荷叶生物碱对非酒精性脂肪肝肝脏脂质沉积的影响[J]. 湘南学院学报(医学版), 2011, 13(2): 23-25.
- [10] 袁洋. 非酒精性脂肪性肝病的代谢组学及荷叶生物碱干预机制研究[D]: [硕士学位论文]. 扬州: 扬州大学, 2008: 51-57.
- [11] Ning, Q., Wang, Y., Zhang, Y., *et al.* (2019) Nuciferine Prevents Hepatic Steatosis by Regulating Lipid Metabolism in Diabetic Rat Model. *Open Life Sciences*, **14**, 699-706. <https://doi.org/10.1515/biol-2019-0079>
- [12] Zhang, C., Deng, J.J., Liu, D., *et al.* (2018) Nuciferine Ameliorates Hepatic Steatosis in High-Fat Diet/Streptozocin-Induced Diabetic Mice through a PPAR α /PPAR γ Coactivator-1 α Pathway. *British Journal of Pharmacology*, **175**, 4218-4228. <https://doi.org/10.1111/bph.14482>
- [13] Guo, F., Yang, X., Li, X., *et al.* (2013) Nuciferine Prevents Hepatic Steatosis and Injury Induced by a High-Fat Diet in Hamsters. *PLoS ONE*, **8**, e63770. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063770>
- [14] 肖淳欣, 杨妙婷, 陈芝娟, 等. 护肝清脂颗粒的质控研究[J]. 中药材, 2018, 41(6): 1408-1414.
- [15] 冯秋琪, 任国艳, 乔香君, 柳嘉, 夏凯. 脂肪肝细胞模型的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2020, 42(12): 2256-2265.
- [16] 刘畅, 张海华, 柴洋洋, 宋兴舜, 王金玲. 红树莓提取物降低油酸诱导 HepG2 细胞脂肪的积累[J]. 现代食品科技, 2019, 35(2): 24-31+178.
- [17] 李懿. 油酸诱导的脂肪肝离体细胞模型中葡萄糖转运体 II 表达变化及意义[D]: [硕士学位论文]. 成都: 四川大学, 2004.
- [18] He, D., Zhang, P., Sai, X., *et al.* (2018) *Camellia euphlebia* Flower Extract Inhibits Oleic Acid-Induced Lipid Accumulation via Reduction of Lipogenesis in HepG2 Cells. *European Journal of Integrative Medicine*, **17**, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2017.11.002>
- [19] 劳玲玲. 委陵菜积雪草酸对非酒精性脂肪肝细胞脂质代谢的影响及作用机制研究[D]: [硕士学位论文]. 南宁: 广西医科大学, 2018.
- [20] Mashek, D.G. (2020) Hepatic Lipid Droplets: A Balancing Act between Energy Storage and Metabolic Dysfunction in NAFLD. *Molecular Metabolism*, Article ID: 101115. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101115>
- [21] Ahmed, M.H. and Byrne, C.D. (2007) Modulation of Sterol Regulatory Element Binding Proteins (SREBPs) as Potential Treatments for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Drug Discovery Today*, **12**, 740-747. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.07.009>
- [22] Shum, M., Ngo, J., Shirihai, O.S., *et al.* (2020) Mitochondrial Oxidative Function in NAFLD: Friend or Foe? *Molecular Metabolism*, Article ID: 101134. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101134>
- [23] Yoon, M. (2009) The Role of PPAR α in Lipid Metabolism and Obesity: Focusing on the Effects of Estrogen on PPAR α Actions. *Pharmacological Research*, **60**, 151-159. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.02.004>