

Protective Effect of Resveratrol against Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Mice

Siyu Mao^{1,2}, Jie Chen², Qing Yang³, Xiaosong Wu^{2*}, Dingding Su^{2*}

¹College of Life Science, Hebei Agricultural University, Baoding Hebei

²College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha Hunan

³College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha Hunan

Email: maosxxu@foxmail.com, 3150641315@qq.com, qingyanghn@hunau.edu.cn, *wuxiaosong529@163.com, *173238116@qq.com

Received: Jan. 28th, 2018; accepted: Feb. 16th, 2018; published: Feb. 23rd, 2018

Abstract

To investigate the protective effect of resveratrol (RES) on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in mice, in the present study, a NAFLD mouse model was established through feeding high-fat diet. Changes in body weight, liver histopathology, lipid composition of liver and serum, and seral cytokines were studied after interventive treatment with RES in the NAFLD mice by using H.E. staining, colorimetric method and Luminex test for multi-factor. The results showed that after feeding high-fat diet, the mouse body weight was higher than that of the normal control group between 4~5 weeks ($p < 0.05$); histopathological injury in liver tissue was obvious; lipid components in liver and serum including triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels were significantly increased, and the high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was significantly decreased; seral transaminases including ALT and AST, seral interleukin (IL)-2, IL-6, IL-1 beta and tumor necrosis factor (TNF- α) were also significantly increased. After intervention with RES, fatty liver lesions induced by high-fat diet were significantly alleviated; and levels of lipid components in liver and serum, seral transferase and cytokines were regulated by RES to some extent. All data indicate that RES has a preventive effect against the NAFLD in mice.

Keywords

Resveratrol, Mouse, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, Protective Effect

白藜芦醇对小鼠非酒精性脂肪肝的预防作用研究

毛思宇^{1,2}, 陈杰², 杨青³, 伍小松^{2*}, 苏丁丁^{2*}

*通讯作者。

文章引用: 毛思宇, 陈杰, 杨青, 伍小松, 苏丁丁. 白藜芦醇对小鼠非酒精性脂肪肝的预防作用研究[J]. 食品与营养科学, 2018, 7(1): 17-25. DOI: 10.12677/hjfn.2018.71003

¹河北农业大学生命科学学院, 河北 保定

²湖南农业大学动物科学技术学院, 湖南 长沙

³湖南农业大学动物医学院, 湖南 长沙

Email: maosxxu@foxmail.com, 3150641315@qq.com, qingyanghn@hunau.edu.cn, *wuxiaosong529@163.com, *173238116@qq.com

收稿日期: 2018年1月28日; 录用日期: 2018年2月16日; 发布日期: 2018年2月23日

摘要

本研究使用高脂日粮饲喂小鼠建立NAFLD动物模型, 研究白藜芦醇(Resveratrol, RES)对非酒精性脂肪肝(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的预防作用效果。采用H.E.染色、比色法及Luminex多因子检测等方法检测了RES干预处理后对体重、肝脏组织学变化、肝脂和血脂成分以及血清中细胞因子等的变化。结果显示: 小鼠饲喂高脂日粮诱导后, 体重在第4~5周时显著高于正常日粮饲喂对照组($p < 0.05$); 肝脏组织受到明显的病理学损伤; 血脂和肝脂包括甘油三酯(Triglyceride, TG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(Low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)的水平均显著高于空白对照组, 而高密度脂蛋白胆固醇(High-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)则降低; 血清转氨酶活力包括丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、血清中细胞因子白介素(Interleukin, IL)-2、IL-6、IL-1 β 以及肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor alpha, TNF- α)的水平显著升高。用RES干预处理后, 高脂所诱导的脂肪肝病明显减轻, 并在不同程度上对血脂和肝脂成分、血清转氨酶及部分细胞因子水平起到相应的调节作用。以上结果揭示, RES对小鼠NAFLD的发生有一定的预防作用。

关键词

白藜芦醇, 小鼠, 非酒精性脂肪肝, 预防作用

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

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

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



Open Access

1. 引言

非酒精性脂肪肝(NALFD)是指不以酒精为主要诱因而造成的肝脏组织发生弥漫性脂肪浸润、脂肪变性以及肝炎, 后期可发展成肝纤维化及肝癌。随着人们生活水平的提高、NALFD 的发生率呈逐年上升的趋势, 对人们的健康构成较大的威胁。对全球流行病学调查结果显示, NAFLD 在成年人中的发病率达20%~30%, 其中肥胖人群中的发病率达75% (娜日苏等, 2016) [1]。NAFLD 在降低患者生活质量的同时还会诱发许多其他疾病的发生, 如糖尿病、心血管疾病等。

近年来, 许多中草药成分在非酒精性和酒精性脂肪肝中的防治有较好的效果, 主要有生物碱类、总酚酸和总黄酮类、单体酚酸、多糖与聚糖类等。白藜芦醇属蓼科蓼属, 是一种非黄酮类多酚类化合物, 广泛存在于葡萄科、豆科、蓼科、百合科植物, 以及花生和多种药用植物(赵昱等, 2010) [2]。研究发现它具有抗肿瘤、抗心血管疾病、抗炎、抗氧化、抗菌抗病毒、抗衰老、植物雌激素作用和调节免疫等多种生物活性(Molino *et al.*, 2016; Garavaglia *et al.*, 2016; Charytoniuk *et al.*, 2017; Luther *et al.*, 2011) [3] [4] [5] [6]。在大小鼠的高脂膳食诱导模型中, 研究显示 RES 的干预对 NALFD 起到较好的治疗作用, 可以

降低体重、体脂比、肝脏系数和肝脏脂肪蓄积、转氨酶、甘油三酯(TG)以及胰岛素抵抗指数等,减轻肝脏脂肪变性的病理学变化;或增加高密度脂蛋白胆固醇含量[7] [8],但 RES 对 NALFD 的防治效果目前还不明确。本研究旨在通过饲喂高脂日粮与注射肝毒素四氯化碳相结合的方式诱导小鼠 NALFD 模型,并经口给予 RES 探讨其对 NALFD 的预防作用效果。

2. 材料与方法

2.1. 主要试剂

白藜芦醇由湖南农业大学国家植物功能成分利用工程技术研究中心提供;丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒、天冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒、总胆固醇(TC)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒等购自南京建成生物工程研究所;RNAiso plus 购自宝生物工程(大连)有限公司;羧甲基纤维素钠购自长沙市宝生盾科技有限公司;四氯化碳购自北京中杉金桥生物技术有限公司;多聚甲醛购自上海国药集团化学试剂有限公司;苏木素和伊红染色液购自中杉金桥生物技术有限公司。

2.2. 试验动物

本研究选用 ICR 雄性小鼠,4 周龄,SPF 级,体重 25~30 g,健康,购置湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2013-0004。购买后适应性饲喂 4d 后开始实验,期间饲喂常规小鼠料,饲养环境安静,昼夜周期为 12 h 光照,12 h 黑暗,温度 25℃ ± 2℃,自由摄食和饮水。本研究中试验动物操作处理严格遵照湖南农业大学动物伦理委员会所制定的规范。

2.3. 试验动物分组与处理

购买的小鼠适应环境后随机分为两组,即正常对照组和高脂模型组,每组 15 只。正常对照组饲喂常规小鼠日粮(购自湖南斯莱克实验动物有限公司)7 周。高脂模型组饲喂高脂日粮(购自扬州利吉生物医药有限公司)7 周,并于第 5 周时注射四氯化碳,日粮配方如表 1 所示。每周称重一次,小鼠自由采食和饮水。实验结束后,收集肝脏和血液分别检测肝脏的形态学变化、血清中转氨酶和血脂的含量变化以确认模型是否构建成功。

Table 1. Formula and nutrients content of the diet
表 1. 实验动物日粮配方及营养成分组成

成分	常规日粮(%)	高脂日粮(%)
豚脂	6	40
酪蛋白	21	21
蔗糖	10	10
纤维素	4	4
矿物质混合物	3.5	3.5
维生素混合物	1	1
乙酰胆碱	0.2	0.2
蛋氨酸	0.3	0.3
玉米淀粉	54	20

待 NAFLD 小鼠模型建立后, 开展 RES 预防实验, 将小鼠随机分 3 组, 即空白对照组、高脂模型组和 RES 预防组, 具体处理如下:

1) 空白对照组: 饲喂常规小鼠饲料, 每天灌胃 0.5% 羧甲基纤维素钠 0.2 mL, 连续灌胃 5 周; 5 周每天按 0.1 mL/10g 体重腹腔注射生理盐水, 每 3 天一次, 共 4 次。

2) 高脂模型组: 饲喂高脂饲料, 每天灌胃 0.5% 羧甲基纤维素钠 0.2 mL, 连续灌胃 5 周; 5 周后每天按 0.1 mL/10g 体重腹腔注射四氯化碳橄榄油溶液(浓度为 0.1%), 每 3 天注射一次, 共 4 次。

3) RES 预防组: 饲喂高脂饲料, 同时每天灌胃 RES 溶液 0.2 mL (30 mg/kg BW/d), 连续灌胃 5 周; 5 周后每天按 0.1 mL/10 g 体重腹腔注射 0.1% 的四氯化碳橄榄油溶液, 每 3 天注射一次, 共 4 次。

实验期间, 小鼠均自由采食饮水, 定期称重。处理结束后, 限食 16 h 后称重, 采血离心收集血清, 收集肝脏并计算肝脏指数([肝脏重量 ÷ 体重) × 100%)。

2.4. 血清转氨酶、血脂和肝脂成分含量的检测

采用比色法检测血浆中转氨酶 ALT 和 AST 活力的变化; 同时检测血脂和肝脂成分, 包括 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 等, 按照南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明书进行。其中肝脏的脂类物质采用氯仿/甲醇法提取, 称取肝脏 0.5 g, 加入 10 mL 预冷的氯仿/甲醇(体积比 2:1)溶液, 用匀浆器匀浆, 室温静置 1 h, 加入 2 mL 超纯水混匀, 3000 rpm 离心 10 min, 取下层的有机相在旋转蒸发仪中干燥, 其残留物加入异丙醇充分溶解用于脂质含量的测定。

2.5. 苏木素-伊红染色(H.E.染色)

采用 H.E. 染色检测肝脏的病理形态学, 将肝脏组织用 4% 多聚甲醛固定后, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 浸蜡, 包埋, 最后切片(厚度为 5 μ m)。组织切片经二甲苯脱蜡, 梯度酒精复水, H.E. 染色, 再脱水、透明并用中性树胶封片, 在显微镜观察并照相。

2.6. 血清细胞因子检测

血清中细胞因子白介素(interleukin, IL)-2、IL-1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α , 采用 Luminex 多因子检测方法, 委托上海莱兹生物科技有限公司完成检测。各细胞因子测量范围: IL-6, 4.9~2000 pg/mL; IL-2, 1.2~5000 pg/mL; IL-1, 1.2~5000 pg/mL; TNF- α : 3.7~15,000 pg/mL。

2.7. 数据分析

实验数据采用 SPSS 13.0 中的 one-way ANOVA 方法进行多重比较、差异显著性检验分析。结果显示用平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示, $p < 0.05$ 表示各处理组与对照组相比具有显著差异。

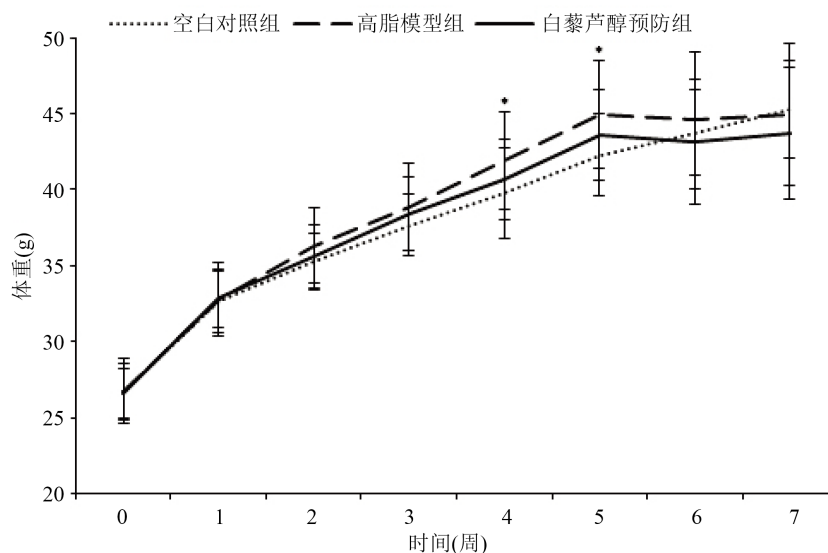
3. 结果与分析

3.1. RES 对 NAFLD 小鼠体重的影响

如图 1 显示, 在高脂诱导的 NAFLD 小鼠模型中, 高脂模型组在诱导第 4~5 周时体重增长显著高于对照组($p < 0.05$); RES 预防处理组体重增长相对于空白对照组虽有升高的趋势, 但无显著差异($p > 0.05$)。当进一步用四氯化碳处理时, 高脂模型组和 RES 处理组小鼠体重增长缓慢, 与对照组体重无统计学差异($p > 0.05$)。

3.2. RES 对 NAFLD 小鼠肝脏组织结构的影响

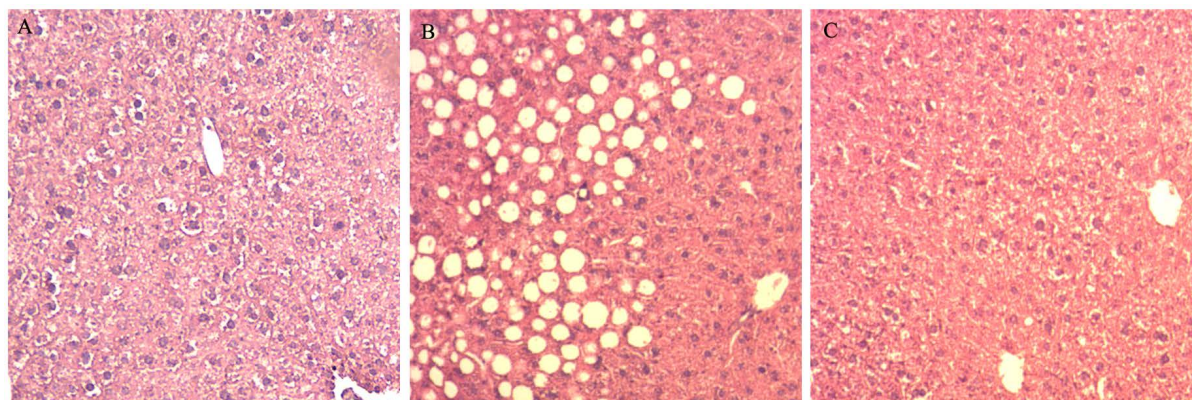
各组小鼠的肝脏病理切片如图 2 所示。空白对照组肝小叶轮廓清晰, 肝索排列整齐, 并围绕在中央



结果为平均值 \pm 标准差; *表示与空白对照组相比具有统计学意义($p < 0.05$)。

Figure 1. Effect of resveratrol on body weight change of NAFLD mice

图 1. 白藜芦醇对 NAFLD 小鼠体重的影响



A: 空白对照组; B: 高脂模型组; C: 白藜芦醇预防组。放大倍数为 100 倍。

Figure 2. Effect of resveratrol on liver histopathology of NAFLD mice

图 2. 白藜芦醇对高脂诱导 NAFLD 小鼠肝脏病理形态学的影响

静脉呈放射状, 肝窦清晰可见, 在汇管区未见炎细胞浸润; 高脂模型组其肝细胞的体积增大, 排列不整齐, 大多细胞的胞浆内含有许多大小不一的圆形脂肪空泡, 而且部分区域伴随有少量炎症细胞的浸润; RES 预防组, 小鼠肝脏脂肪变性程度有较大幅度的减轻, 肝小叶轮廓较清晰, 肝细胞仍可见极少数的脂肪空泡。

3.3. RES 对 NAFLD 小鼠血脂水平的影响

饲喂高脂日粮 7 周后, 小鼠血清中 TG、TC 和 LDL-C 的含量均高于空白对照组($p < 0.05$), 而 HDL-C 则低于空白对照组。RES 预防组与高脂模型组相比, 小鼠血清中 TG、TC 和 LDL-C 等指标均呈下降趋势, 其中 TC 和 LDL-C 显著下降($p < 0.05$), 但与空白对照组比还是呈升高趋势($p < 0.05$); 此外, RES 预防组血清中 HDL-C 的水平较高脂模型组显著升高($p < 0.05$), 与对照组差异不显著($p > 0.05$)。具体结果见表 2 所示。

Table 2. Effect of resveratrol on serum lipids in NAFLD mice
表 2. 白藜芦醇对 NAFLD 小鼠血脂和转氨酶的影响

检测指标	空白对照组	高脂模型组	白藜芦醇预防组
TG (mmol/L)	0.75 ± 0.15	0.92 ± 0.17 ^a	0.83 ± 0.11
TC (mmol/L)	1.55 ± 0.13	6.93 ± 1.26 ^a	4.39 ± 1.12 ^{ab}
LDL-C (mmol/L)	0.71 ± 0.21	2.92 ± 0.45 ^a	1.76 ± 0.37 ^{ab}
HDL-C (mmol/L)	1.21 ± 0.15	0.73 ± 0.11 ^a	1.02 ± 0.09 ^b
ALT (U/L)	85.55 ± 16.41	176.14 ± 21.7 ^a	131.54 ± 24.3 ^{ab}
AST (U/L)	131.62 ± 21.5	253.65 ± 32.9 ^a	179.98 ± 23.7 ^{ab}

TG, 甘油三酯; TC, 总胆固醇; LDL-C, 高密度脂蛋白胆固醇; HDL-C, 高密度脂蛋白胆固醇; ALT, 丙氨酸氨基转移酶; AST, 天门冬氨酸氨基转移酶。结果表示 mean ± SD, n = 8, 其中上标 a 表示与正常组比差异显著($p < 0.05$), b 表示与高脂模型组比差异显著($p < 0.05$)。

3.4. RES 对 NAFLD 小鼠肝脏指数和肝脂的影响

小鼠肝脏指数及肝脂成分 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 的检测如表 3 所示, 高脂模型组中肝脏指数显著升高($p < 0.05$), 同时肝脏匀浆液中 TG、TC、LDL-C 的含量也显著升高($p < 0.05$), 而 HDL-C 的水平显著下降($p < 0.05$)。RES 预防组中肝脏指数以及 TG 和 TC 的水平相对于高脂模型组显著降低($p < 0.05$), 但仍显著高于空白对照组($p < 0.05$); RES 对高脂模型组中肝脂成分 LDL-C 和 HDL-C 的含量无显著调节作用($p > 0.05$), 与空白对照组均具有显著差异($p < 0.05$)。

3.5. RES 对 NAFLD 小鼠血清细胞因子的影响

本研究中, 利用 Luminex 多因子检测技术检测了血清中细胞因子 IL-2、IL-6、IL-1 β 以及 TNF- α 的水平。结果如表 4 所示, 高脂模型组小鼠血清中细胞因子 IL-2、IL-6、IL-1 β 以及 TNF- α 的水平显著升高($p < 0.05$); RES 预防组小鼠血清中 IL-2、IL-6 以及 TNF- α 的水平与高脂模型组相比均显著下降($p < 0.05$), 而 IL-1 β 的水平无显著性差异($p > 0.05$), 与空白对照组相比, 各细胞因子均显著升高($p < 0.05$)。

4. 讨论

NAFLD 的发展是一个相对较复杂的过程, 目前还没有有效的根治方法。根据其病变, 由轻到重可以分为单纯性脂肪性肝病、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)和肝硬化三个不同的病理阶段。NASH 是 NAFLD 的一个重要中间阶段, 对 NAFLD 疾病的进展起着决定性的作用。如果 NASH 预后不佳时则可增加肝硬化的发病率, 因此, NASH 是药物干预和治疗的关键时期(施军平和范建高, 2010) [9]。许多膳食成分具有无毒无副作用的特点、同时能够通过多靶点进行有效的调控等优点, 因此, 膳食干预是目前最常用的控制 NAFLD 发生发展的手段。多酚类化合物是广泛分布于各种膳食如水果、蔬菜、谷物中的化合物, 具有较强的抗氧化能力, 同时还具有降血脂、降血糖、减肥、抗炎等多种调节作用(Molino *et al.*, 2016; Gato *et al.*, 2013; Luximon-Ramma *et al.*, 2006; Terra *et al.*, 2011) [3] [10] [11] [12]。大量的研究表明, 许多多酚类化合物如葡萄籽提取物、蓝莓多酚、肉桂多酚、白藜芦醇、大豆异黄酮、儿茶素以及姜黄素等对脂肪细胞的分化和脂质代谢具有重要的调节作用, 但因其化合物结构不同所以效果也不一(Molino *et al.*, 2016; Xiao *et al.*, 2013) [3] [13]。

最近的研究阐明, RES 对许多种肝脏疾病都有治疗效果, 对肝功能具有良好的保护作用。RES 通过减少脂肪沉积、坏死以及由缺血所诱导的凋亡显著提高肝脏移植后大鼠的存活; RES 能抵抗化学物质、胆汁郁积以及酒精所引起的损伤而保护肝脏; RES 还能改善葡萄糖的新陈代谢和血脂, 减少脂肪纤维化

Table 3. Effect of resveratrol on liver index and liver lipids in NAFLD mice**表 3.** 白藜芦醇对 NAFLD 小鼠肝脂指数和肝脂的影响

检测指标	空白对照组	高脂模型组	白藜芦醇预防组
肝脂指数(%)	3.86 ± 0.52	7.68 ± 0.29 ^a	5.74 ± 0.43 ^{ab}
TG (mmol/L)	12.46 ± 2.23	43.32 ± 15.76 ^a	27.45 ± 12.3 ^{ab}
TC (mmol/L)	19.54 ± 4.30	143.27 ± 35.49 ^a	97.58 ± 22.38 ^{ab}
LDL-C (mmol/L)	10.39 ± 2.03	165.86 ± 56.39 ^a	128.41 ± 49.96 ^a
HDL-C (mmol/L)	7.12 ± 0.33	5.38 ± 0.63 ^a	5.89 ± 0.29 ^a

结果显示为平均值 ± 标准差, n = 6, 其中上标 a 表示与正常组比差异显著($p < 0.05$), b 表示与高脂模型组比差异显著($p < 0.05$)。

Table 4. Effect of resveratrol on serum cytokines in NAFLD mice**表 4.** 白藜芦醇对 NAFLD 小鼠血清中细胞因子的影响

检测指标	空白对照组	高脂模型组	白藜芦醇预防组
IL-2 (pg/mL)	10.32 ± 1.38	27.25 ± 7.54 ^a	16.33 ± 4.02 ^{ab}
IL-6 (pg/mL)	84.70 ± 10.34	164.21 ± 25.31 ^a	105.21 ± 16.48 ^{ab}
IL-1 β (pg/mL)	60.29 ± 8.21	91.65 ± 19.67 ^a	86.35 ± 10.26 ^a
TNF- α (pg/mL)	78.52 ± 14.92	186.45 ± 31.15 ^a	130.65 ± 19.67 ^{ab}

结果显示为平均值 ± 标准差, n = 6, 其中上标 a 表示与正常组比差异显著($p < 0.05$), b 表示与高脂模型组比差异显著($p < 0.05$)。

和脂肪变性;此外,RES 还能改变脂肪细胞脂肪酸的组成(Wu *et al.*, 2005, 2006a and 2006b; Faghihzadeh *et al.*, 2015) [14] [15] [16] [17]。因此,在本研究中,通过高脂饮食与腹腔注射四氯化碳相结合诱导建立小鼠 NAFLD 模型,通过一定剂量的 RES 干预研究了 RES 对 NAFLD 的预防作用。在 NAFLD 的发生及发展过程中常伴随有高脂血症,高脂血症是动脉粥样硬化和冠心病等心血管疾病的重要危险因素,因此降低血脂水平有着重要意义。本研究结果显示,灌喂 RES 可显著降低高脂模型组小鼠血清中的血脂成分,包括 TC、TG 和 LDL-C,同时显著升高 HDL-C 的含量,虽与正常对照还存在差异,但说明 RES 在一定程度上调节血脂相关成分的水平,并降低发生高脂血症的风险。在其他的类似研究中,也均显示 RES 能显著降低血脂和/或肝脂水平(任平等, 2011; Ali *et al.*, 2016) [18] [19]。在王晓珂等人的研究中,先用高脂诱导大鼠 NAFLD 后,再用 RES 进行干预治疗,也能显著降低 TC、TG 和 LDL-C 的水平,升高 HDL-C 的水平(王晓珂等, 2013) [20]。由此可见,RES 不仅对 NAFLD 具有预防作用,还可有效治疗高血脂症诱发所导致的其余症状。

转氨酶 AST 和 ALT 主要存在于肝细胞中,正常情况下 AST 和 ALT 在血液中的水平非常低,而当肝脏受到损伤时,肝细胞中的转氨酶被释放出来,从而导致血清转氨酶水平升高,而血清 AST 和 ALT 的活性是评价肝功能的两项重要指标。在本研究中,高脂动物模型组血清中的 AST 和 ALT 水平均显著升高一倍左右。经口给予 RES 显著降低了血清中 AST 和 ALT 的水平,这说明 RES 能在一定程度上降低高脂对肝脏造成的损伤,从而改善肝功能。

高脂诱导能导致炎性细胞因子的升高,肝内 B (intrahepatic B, IHB)可诱导细胞因子 IL-6、TNF- α 等的分泌而参与 NAFLD 的发生(Zhang *et al.*, 2016) [21]。脂肪肝发病过程中脂质大量堆积于肝脏,当脂质长期大量蓄积时则会发生脂肪变性,可诱发促氧化物质增多并使抗氧化物质减少,从而导致氧应激,使细胞内氧自由基显著增加导致脂质过氧化损伤。脂质过氧化过程中产生大量的活性氧(ROS)、脂质自由基及其降解产物丙二醛(MDA)和 4-羟基壬烯酸(HNE)等,这些物质可进一步诱发免疫反应,趋化中性粒细

胞,导致炎症细胞的浸润而产生炎症反应。许多研究表明细胞因子在 NSFLD 的病理发生过程中起着重要作用,细胞因子作为一类重要的调节因子,参与调节机体对胰岛素的敏感性,肝脏脂质的蓄积,肝脏损伤及炎症,肝纤维化和肝硬化等(Carterkent *et al.*, 2008) [22]。在本研究中,使用 Luminex 法对血清中的部分细胞因子进行了分析,高脂诱导能使细胞因子 IL-2、IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 显著升高,经口给予 RES 使上述细胞因子水平呈不同程度的下降,其中 IL-2 和 IL-6 下降显著。辅助性 T 细胞(Helper T cell, Th 细胞)可分化为 Th1、Th2、Th3 和 Th17 细胞亚群,其中 Th1 细胞为 CD4 阳性细胞,主要分泌 IL-2、TNF- β 和 IFN- γ 等,参与调节细胞免疫,介导细胞免疫应答等。Th2 主要分泌 TNF- α 、IL-6、GM-CSF、IL-3、IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13 等因子,主要参与体液免疫,在诱发过敏反应中起着决定性的作用(Singh *et al.*, 1999) [23]。因此,在本研究中,RES 可能通过调节部分 Th1/Th2 细胞因子减少 NAFLD 发展过程中的炎症反应。

5. 结论

由实验结果得知,通过高脂日粮结合四氯化碳诱导可建立较理想的小鼠 NAFLD 模型,表现为体重在升高;肝脏及血清中 TG、TC、LDL-C 的水平升高,HDL-C 降低;小鼠肝脏指数和血清转氨酶水平显著升高及血清中细胞因子 IL-2、IL-6、IL-1 β 以及 TNF- α 升高;小鼠肝脏组织发生明显的脂肪病变。用白藜芦醇预防处理可显著改善高脂所诱导的脂肪病变,并在不同程度上对血脂和肝脂成分、转氨酶以及细胞因子水平起到了调节作用。以上结果揭示,白藜芦醇对小鼠非酒精性脂肪肝有一定的预防作用,其作用机制需进一步研究。

基金项目

“国家自然科学基金”(31772819 和 31302005)。

参考文献 (References)

- [1] 娜日苏,包纳日斯.非酒精性脂肪肝的发病机制与流行病学的研究进展[J].中国医药指南,2016,14(3):39-40.
- [2] 赵昱,刘靖靖,李凤贤,彭芳,巫秀美,曾苏,刘光明.天然药物防治非酒精性和酒精性脂肪肝的研究进展[J].国际药学研究杂志,2010,37(6):408-424.
- [3] Molino, S., Dossena, M., Buonocore, D., Ferrari, F., Venturini, L., Ricevuti, G. and Verri, M. (2016) Polyphenols in Dementia: From Molecular Basis to Clinical Trials. *Life Sciences*, **161**, 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.07.021>
- [4] Garavaglia, J., Markoski, M.M., Oliveira, A. and Marcadenti, A. (2016) Grape Seed Oil Compounds: Biological and Chemical Actions for Health. *Nutrition and Metabolic Insights*, **9**, 59-64. <https://doi.org/10.4137/NMI.S32910>
- [5] Charytoniuk, T., Drygalski, K., Konstantynowicz-Nowicka, K., Berk, K. and Chabowski, A. (2017) Alternative Treatment Methods Attenuate the Development of NAFLD: A Review of Resveratrol Molecular Mechanisms and Clinical Trials. *Nutrition*, **34**, 108-117. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.09.001>
- [6] Luther, D.J., Ohanyan, V., Shamhart, P.E., Hodnichak, C.M., Sisakian, H., Booth, T.D., Meszaros, J.G. and Bishayee, A. (2011) Chemopreventive Doses of Resveratrol Do Not Produce Cardiotoxicity in a Rodent Model of Hepatocellular Carcinoma. *Investigational New Drugs*, **29**, 380-391. <https://doi.org/10.1007/s10637-009-9332-7>
- [7] 肖方喜,陈璐璐,孙晖,尚敬.白藜芦醇对高脂喂养诱导的脂肪肝大鼠血清大鼠血清 TNF- α 含量的影响[J].中国康复,2008,23(6):377-379.
- [8] 肖虎,张皎月,郑涓.白藜芦醇下调小鼠非乙醇性脂肪性肝炎环氧合酶 2 的表达[J].世界华人消化杂志,2008,16(19):2092-2096.
- [9] 施军平,范建高.保肝抗炎药物在非酒精性脂肪性肝病治疗中的作用[J].世界临床药物,2010,31(9):526-529.
- [10] Gato, N., Kadowaki, A., Hashimoto, N., Yokoyama, S. and Matsumoto, K. (2013) Persimmon Fruit Tannin-Rich Fiber Reduces Cholesterol Levels in Humans. *Annals of Nutrition & Metabolism*, **62**, 1-6. <https://doi.org/10.1159/000343787>
- [11] Luximon-Ramma, A., Neergheen, V.S., Bahorun, T., Crozier, A., Zbarsky, V., Datla, K.P., Dexter, D.T. and Aruoma, O.I. (2006) Assessment of the Polyphenolic Composition of the Organic Extracts of Mauritian Black Teas: A Potential

- Contributor to Their Antioxidant Functions. *Biofactors*, **27**, 79-91. <https://doi.org/10.1002/biof.5520270108>
- [12] Terra, X., Pallarés, V., Ardèvol, A., Bladé, C., Fernández-Larrea, J., Pujadas, G., Salvadó, J., Arola, L. and Blay, M. (2011) Modulatory Effect of Grape-Seed Procyanidins on Local and Systemic Inflammation in Diet-Induced Obesity Rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **2**, 380-388. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.03.006>
- [13] Xiao, J., So, K.F., Liong, E.C. and Tipoe G.L. (2013) Recent Advances in the Herbal Treatment of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, **3**, 88-94. <https://doi.org/10.4103/2225-4110.110411>
- [14] Wu, S.L., Yu, L., Jiao, X.Y., Meng, K.W. and Pan, C.E. (2006) The Suppressive Effect of Resveratrol on Protein Kinase C Theta in Peripheral Blood T Lymphocytes in a Rat Liver Transplantation Model. *Transplantation Proceedings*, **38**, 3052-3054. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2006.08.150>
- [15] Wu, S.L., Yu, L., Meng, K.W., Ma, Z.H. and Pan, C.E. (2005) Resveratrol Prolongs Allograft Survival after Liver Transplantation in Rats. *World Journal of Gastroenterology*, **11**, 4745-4749. <https://doi.org/10.3748/wjg.v11.i30.4745>
- [16] Wu, S.L., Yu, L., Pan, C.E., Jiao, X.Y., Lv, Y., Fu, J. and Meng, K.W. (2006) Apoptosis of Lymphocytes in Allograft in a Rat Liver Transplantation Model Induced by Resveratrol. *Pharmacological Research*, **54**, 19-23. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2006.01.011>
- [17] Faghihzadeh, F., Hekmatdoost, A. and Adibi, P. (2015) Resveratrol and Liver: A Systematic Review. *Journal of Research in Medical Sciences*, **20**, 797-810. <https://doi.org/10.4103/1735-1995.168405>
- [18] 任平, 王文斌, 欧阳昌汉, 李蔚, 鲁玲, 吴基良. 白藜芦醇对非酒精性脂肪肝小鼠肝组织脂质过氧化的影响[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(9): 2149-2151.
- [19] Ali, M.H., Messiha, B.A. and Abdel-Latif, H.A. (2016) Protective Effect of Ursodeoxycholic Acid, Resveratrol, and N-Acetylcysteine on Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rats. *Pharmaceutical Biology*, **54**, 1198-1208.
- [20] 王晓珂, 赵健亚, 刘天娥, 蒋建中, 张璇, 王春, 陈刚. 白藜芦醇对大鼠非酒精性脂肪肝的作用及机制研究[J]. 毒理学杂志, 2013, 27(6): 450-453.
- [21] Zhang, F., Jiang, W.W., Li, X., Qiu, X.Y., Wu, Z., Chi, Y.J., Cong, X. and Liu, Y.L. (2016) Role of Intrahepatic B Cells in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease by Secreting Pro-Inflammatory Cytokines and Regulating Intrahepatic T cells. *Journal of Digestive Diseases*, **17**, 464-474. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12362>
- [22] Carterkent, C., Zein, N.N., Feldstein, A.E., Qiu, X.Y., Wu, Z., Chi, Y.J., Cong, X. and Liu, Y.L. (2008) Cytokines in the Pathogenesis of Fatty Liver and Disease Progression to Steatohepatitis: Implications for Treatment. *American Journal of Gastroenterology*, **103**, 1036-1042. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01709.x>
- [23] Singh, V.K., Mehrotra, S. and Agarwal, S.S. (1999) The Paradigm of Th1 and Th2 Cytokines: Its Relevance to Autoimmunity and Allergy. *Immunology Research*, **20**, 147-161. <https://doi.org/10.1007/BF02786470>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2166-613X, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjfn@hanspub.org