



## 黄芪甲苷衍生物HHQ16上调 $\alpha$ 1酸性糖蛋白改善肝细胞脂质沉积

黎翔, 代鲜敏, 刘霞, 孙旻

## Upregulation of $\alpha$ 1-acidglycoprotein to ameliorate hepatocyte lipid accumulation by Astragaloside derivative HHQ16

LI Xiang, DAI Xianmin, LIU Xia, SUN Yang

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202309026>

### 您可能感兴趣的其他文章

#### Articles you may be interested in

体外脂解模型在脂质制剂评价中的研究进展

Research progress on *in vitro* lipolysis model for the evaluation of lipid formulations

药学实践与服务. 2017, 35(6): 481-484,489 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.06.001

氧化亚铜纳米粒对B16细胞上皮间质转化的影响

Cuprous oxide nanoparticles effect on the epithelial-mesenchymal transition of B16 cells

药学实践与服务. 2017, 35(3): 233-237 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.010

青箱总皂苷对高血脂动物脂质代谢的影响

Pharmacodynamic study of total celosins on anti-hyperlipidemia

药学实践与服务. 2018, 36(6): 493-498 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.004

核-壳结构的脂质-聚合物杂化纳米粒的研究进展

Advances in the studies of core-shell-type lipid-polymer hybrid nanoparticles

药学实践与服务. 2018, 36(1): 13-17 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.01.003

深绿木霉D16生物菌肥对丹参生长和次生代谢的影响

Effects of fungal biofertilizer from *Trichoderma atroviride* D16 on the growth and secondary metabolism of *Salvia miltiorrhiza*

药学实践与服务. 2019, 37(3): 216-221 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.03.005

16所医院单病种合理用药评价指标构建及应用

Construction and application of the rational drug use of single-disease index in 16 hospitals

药学实践与服务. 2018, 36(6): 569-572,576 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.021



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

## 黄芪甲苷衍生物 HHQ16 上调 $\alpha 1$ 酸性糖蛋白改善肝细胞脂质沉积

黎 翔, 代鲜敏, 刘 霞, 孙 旻 (海军军医大学药理学系临床药理学教研室, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 研究黄芪甲苷衍生物 HHQ 16 对肝细胞脂质沉积的作用及机制。方法 在 AML12 肝细胞上用游离脂肪酸构建脂质沉积模型, 检测细胞的甘油三酯和油红染色等反映肝细胞脂质沉积情况。通过实时定量 PCR 和蛋白免疫印迹法检测  $\alpha 1$  酸性糖蛋白(ORM)及其上游相关调控因子表达。通过 siRNA 技术对 ORM1 的表达进行干扰, 确定 ORM1 是否介导 HHQ16 的作用。结果 HHQ16 显著改善 FFA 导致的肝脂质沉积, 同时 HHQ16 升高 ORM 表达, 干扰主要亚型 ORM1 表达后 HHQ16 改善肝细胞脂质沉积作用被逆转。结论 HHQ16 通过升高 ORM 改善肝细胞脂质沉积。

**[关键词]** HHQ16;  $\alpha 1$  酸性糖蛋白; 肝细胞; 脂质沉积

**[文章编号]** 2097-2024(2024)04-0141-06 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202309026

## Upregulation of $\alpha 1$ -acidglycoprotein to ameliorate hepatocyte lipid accumulation by Astragaloside derivative HHQ16

LI Xiang, DAI Xianmin, LIU Xia, SUN Yang (Department of Clinical Pharmacy, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect and mechanism of HHQ 16, a derivative of astragaloside IV, on hepatocyte lipid accumulation. **Methods** Free fatty acids were used to stimulate lipid hepatocyte accumulation. Triglyceride and Oil Red O staining were detected to reflect hepatocyte lipid accumulation. The expression of  $\alpha 1$ -acidglycoprotein (ORM) and its regulators were detected by real-time quantitative PCR and immunoblotting. The expression of ORM1 was interfered with siRNA to determine whether it mediated the action of HHQ16. The expression of ORM1 was interfered by siRNA to determine whether it mediated the action of HHQ16. **Results** HHQ16 significantly ameliorated FFA-induced hepatocyte lipid deposition. HHQ16 elevated ORM expression, and the protective effect of HHQ16 on hepatocyte lipid accumulation was reversed by ORM interference. **Conclusion** HHQ16 could ameliorate hepatocyte lipid accumulation by elevating ORM.

**[Key words]** HHQ16; ORM; hepatocyte; lipid accumulation

传统中药黄芪可补益肝气、活血利水, 对各种慢性肝病均具有治疗作用<sup>[1]</sup>, 其有效成分包括黄芪皂苷类、黄芪多糖类、黄芪黄酮类等。其中, 黄芪甲苷(AS-IV)作为《中国药典》规定的中药黄芪的质控标准, 是中药黄芪的主要活性成分, 具有抗炎、降糖调脂、抗纤维化等作用<sup>[2]</sup>, 已被证实能改善实验性非酒精性脂肪肝<sup>[3]</sup>。但黄芪甲苷水溶性差、生物利用度低等特点限制了其临床应用前景。本课题组研究人员前期通过对黄芪甲苷进行结构优化改

造, 提高化合物溶解性, 改善药物动力学性质, 筛选到水溶性好、成药性佳的小分子化合物 HHQ16<sup>[4]</sup>, 具有良好的新药研发前景。

ORM (Orosomuroid) 是一种主要由肝脏合成分泌的急性期蛋白, 在血清、肝脏及其他外周组织以 ORM1 亚型表达为主。ORM 具有运载药物、免疫调节等多种生物学功能, 近年来, 其在代谢性疾病中的作用受到越来越多的关注<sup>[5]</sup>。本课题组研究人员前期研究发现, ORM 是一个新的内源性能量调控蛋白, ORM1 缺失可导致小鼠肝脏脂质沉积<sup>[6]</sup>。Zhou 等也发现, ORM2 可以抑制脂质从头合成, 改善肝脏的脂代谢<sup>[7]</sup>。这些研究都提示 ORM 可成为治疗肝脏脂代谢相关疾病的潜在靶标。

本研究中采用游离脂肪酸(FFA)诱导肝细胞脂质损伤模型, 探讨全新小分子化合物 HHQ 16 对肝细胞脂质沉积的改善作用及对 ORM 信号的调控作用。

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(82073907, 82073842); 上海市科委生物医药领域科技支撑项目(20S11902700); 上海市 2021 年度“科技创新行动计划”优秀学术/技术带头人计划项目(21XD1404700)

**[作者简介]** 黎 翔, 硕士研究生, Tel:15207495713, Email: 15207495713@163.com

**[通信作者]** 刘 霞, 教授, 博士生导师, 研究方向: 药理学, Email: lxflyng@aliyun.com; 孙 旻, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 药理学, Email: DawnySun@126.com

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试剂

油红 O(0684, Amresco)、棕榈酸钠(Macklin)、油酸(Sigma)、牛血清白蛋白(Sigma)、异丙醇(80109218, 国药集团)、 $\alpha 1$  酸性糖蛋白抗体(Genway Biotech Inc.)、GAPDH 抗体(Affinity)、Tubulin 抗体(Affinity)、抗兔 IgG 抗体(Rockland)、油红 O 染色试剂盒(Solarbio)、细胞及组织总蛋白抽提试剂盒(数谱生物)、NC 膜(GE Amersham)、NC 膜平衡液(VisualProtein)、封闭液(VisualProtein)、蛋白酶抑制剂三联装(上海碧云天生物有限公司)、蛋白质预染色标记(上海碧云天生物有限公司)。

### 1.2 实验仪器

酶标检测仪(Epoch BioTeK)、涡旋混合器(MX-F Servicebio)、台式高速冷冻离心机(D3024R, 大龙)、蛋白电泳仪(Bio-Rad Laboratories, Inc)、蛋白快速湿转仪(GenScript, Inc.)、荧光扫描仪(LiCOR Biosciences)、制冰机(Scotsman Industries Inc.)、电热恒温水浴锅 SVT3100(杭州瑞城仪器有限公司)、PCR 扩增仪(Thermo Fisher Scientific)、QuantStudio 3 实时荧光定量 PCR 仪(ABI)。

### 1.3 实验细胞

小鼠肝细系 AML12, 购自中国科学院细胞库。培养液配方: DMEM/F-12 (1 : 1)、FBS(Fetal bovine serum)、1‰ ITS 液体补充剂、1‰ 双抗生素。培养条件: 5%CO<sub>2</sub>、37 °C 恒温孵育箱。

### 1.4 细胞 FFA 模型构建

1%BSA 配制: 100 mg 牛血清白蛋白(BSA)加入 10 ml 双蒸水, 振荡混匀, 4 °C 保存备用; 12 mmol/L 油酸(OA)储备液(12.976 mg)加入 5 ml 1% BSA 溶液中, 振荡混匀, 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜进行滤菌处理, 4 °C 保存; 6 mmol/L 棕榈酸钠(PA)储备液(8.352 mg)加入 5 ml 1% BSA 溶液, 60 °C 水浴加热混匀至无沉淀析出, 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜进行滤菌处理, 4 °C 保存, 冷却之后出现沉淀为正常形象, 不高于 60 °C 水浴加热后可继续使用。接种细胞: 将 AML12 小鼠肝细胞接种于 6 孔板, 密度约为 10<sup>6</sup> 个/孔, 每组复孔为 3, 在 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 恒温培养箱培养。细胞造模: 弃去完全培养基, 按照 OA : PA=800  $\mu$ mol/L : 400  $\mu$ mol/L 的比例, 用无血清培养基稀释药物储备液(即配即用), 刺激细胞 24 h, 构建 FFA 脂质沉积模型; 同样按照 OA : PA=1 000  $\mu$ mol/L : 500  $\mu$ mol/L 的比例刺激细胞 24 h,

构建 FFA 脂质损伤模型。在药物处理前, 更换含 PA、OA 的无血清培养基, 用于后续实验。

### 1.5 Western-blot

用 PBS 漂洗 AML12 细胞 2 次后, 提取细胞总蛋白, 参照碧云天 BCA(Bicinchoninic Acid Assay) 蛋白浓度测定试剂盒说明书测量蛋白浓度, 加入 1/4 体积的 5X 蛋白上样缓冲液, 沸水煮 10 min, 按 20 ng 蛋白/孔上样电泳, 转膜, 封闭 1 h, 一抗 ORM (1 : 1 000), GAPDH(1 : 5 000), Tubulin(1 : 5 000) 4 °C 孵育过夜, 二抗(1 : 10 000) 37 °C 孵育 1 h。ECL 法显色曝光, 使用 ImageJ 图像分析软件测定蛋白灰度值。

### 1.6 CCK8

接种细胞: 将 AML12 接种于 96 孔板, 密度约 10<sup>4</sup> 个/孔, 每组复孔为 6。药物刺激: 弃去培养基, 用无血清的培养基加不同浓度 FFA(OA : PA=2 : 1)刺激细胞 24 h 后, 在原培养基里加入浓度为 1  $\mu$ mol/L 黄芩甲苷衍生物 HHQ16 刺激 12 h。CCK8 检测: 弃去培养基, 每孔加 100  $\mu$ l 无血清培养基, 快速加入 10  $\mu$ l CCK8 (Cell Counting Kit-8) 溶液, 勿产生气泡, 放入培养箱孵育 15、30、60、120 min。吸光度测定: 在上述时间点测定 450 nm 处 A 值, 根据不同组之间的 A 值计算组间差异。

### 1.7 实时定量 PCR

采用 AG RNAex Pro RNA 提取试剂(艾科瑞生物, 中国), 按照说明书提取小鼠肝脏和小鼠肝细胞(AML12)的 RNA, 随后采用 Evo M-MLV 反转录试剂盒(艾科瑞生物, 中国)将 RNA 逆转录为 cDNA, 逆转录反应条件如下: 37 °C 15 分钟、85 °C 5 秒、4 °C  $\infty$ 。以 GAPDH 为内参, 采用实时荧光定量 PCR 方法对目的基因进行定量分析, 通过 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 计算目的基因在不同组别之间的表达差异。反应条件如下, 保持阶段, 95 °C 10 分钟; 循环阶段, 95 °C 15 秒(40 个循环), 60 °C 1 分钟; 融化曲线阶段, 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s。引物序列见表 1。

表 1 相关引物序列

| 基因    | 上游序列(5'—3')               | 下游序列(5'—3')                |
|-------|---------------------------|----------------------------|
| ORM1  | ACACAATAGAGCTTCGG<br>GAGT | ATATCTGGCCTTTTGGC<br>ATAGA |
| GAPDH | CCAATGCACCACTGCTT<br>AG   | GGATGCAGGGATGATGT<br>TCT   |

### 1.8 甘油三酯含量测定

样品前处理: 直接在培养板中裂解细胞, 按 100  $\mu$ l/10<sup>6</sup> 加入裂解液, 混匀后静置 10 min, 取适量

上清液, 70 °C 加热 10 min, 室温 2 000 r/min 离心 5 min, 上清液直接用于酶学测定, 余下裂解液参照 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量或-20 °C 保存备用。

样品测定: 选取 96 孔板, 分为样品孔、标准孔和空白孔, 每孔分别加入 10  $\mu$ l 待测样品、标准品及蒸馏水, 再加入 190  $\mu$ l 工作液, 37 °C 或 25 °C 反应 15 min, 反应平衡后在 60 min 内稳定, 根据吸光度值计算待测样本甘油三酯浓度。

### 1.9 油红染色

移除细胞培养基后, 用 PBS 洗涤两次后, 加油红 O 固定液固定 20 ~ 30 min。弃去固定液, 用蒸馏水洗涤 2 次, 加入 60% 异丙醇浸洗 20 ~ 30 s。弃去 60% 异丙醇后加入新配置好的油红 O 染色液, 浸染 10 ~ 20 min。弃去染色液, 60% 异丙醇漂洗 20 ~ 30 s 至间质清晰, 水洗 2 ~ 5 次, 直至无多余染液。加入 Mayer 苏木素染色液, 复染核 1 ~ 2 min, 弃去染液后水洗 2 ~ 5 次, 加入油红 O 缓冲液孵育 1 min, 弃去。加入蒸馏水覆盖细胞并在显微镜下观察。采用 ImageJ 软件对免疫组化阳性细胞占区域面积比进行统计并分析数据。

### 1.10 ORM1 的 siRNA 验证与筛选

ORM1 基因的 siRNA 由广州锐博生物技术有限公司构建, 序列见表 2。

表 2 基因转染序列

| siRNA    | 序列                  |
|----------|---------------------|
| siORM1-1 | GCAGGCAATTCAAACAATG |
| siORM1-2 | CAACTTCACCATAGGCGAA |
| siORM1-3 | CCACCACTTGATAAACGA  |

接种细胞: AML12 细胞接种于 12 孔板, 密度约 10<sup>6</sup> 个/孔, 每组复孔为 3。

siRNA 孵育液配置: 采用 Polyplus Transfection 公司 INTERFERin 转染试剂, 以 12 孔板为例, 取 1  $\mu$ l siRNA 溶液, 加入 200  $\mu$ l DMEM/F12 培养基, 混匀离心, 再加入 5  $\mu$ l INTERFERin 转染试剂, 再次混匀离心, 室温孵育 10 min。

转染: 更换原培养基为含 1% FBS 的完全培养基, 每孔加入 siRNA 孵育液 200  $\mu$ l, 48 h 后收集细胞总蛋白、总 RNA。

验证: 根据蛋白和基因水平确定最佳干扰序列。

### 1.11 数据统计与分析

本实验采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据统计与分析。单因素两组之间相互比较, 采用 student *t* 检验分析; 单因素多组之间相互比较, 采用

单向方差分析 one way ANOVA 检验; 组间均值两两比较采用 Dunnett's multiple comparisons test 检验。实验结果均采用(均数 $\pm$ 标准误)表示。若  $P < 0.05$ , 则认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HHQ16 改善肝细胞脂质沉积

用经典 FFA(OA:PA=2:1)进行脂质沉积造模, 在小鼠 AML12 细胞上, 当 OA:PA=200  $\mu$ mol/L:100  $\mu$ mol/L 时, 开始出现脂质沉积, 当 OA:PA=400  $\mu$ mol/L:200  $\mu$ mol/L 时, 可见明显脂质沉积(图 1A), 但当 OA:PA=800  $\mu$ mol/L:400  $\mu$ mol/L 时才发生肝细胞活力下降(图 1B)。在给予药物 HHQ16 后, 可缓解 FFA 导致的脂质沉积, 降低甘油三酯水平, 恢复肝细胞活力(图 1C~F)。

### 2.2 HHQ16 升高肝细胞 ORM 表达

分别用相同剂量的黄芪甲苷和 HHQ16 处理 AML12 肝细胞, 发现相较于黄芪甲苷, 改造后的 HHQ16 能更显著地提高细胞内 ORM 水平(图 2A)。进一步时效和量效实验显示, HHQ16 可以时间依赖性与剂量依赖性地升高 ORM 的表达水平(图 2B、2C)。此外, CCK8 实验结果显示, 黄芪甲苷与 HHQ16 在最高实验剂量(1 000 nmol/L)下均未对 AML12 细胞活力产生影响(图 2D), 说明该实验浓度下药物无细胞毒性。

### 2.3 HHQ16 调控 ORM 上游多个转录因子

研究人员初步探索了 HHQ16 调控 ORM 表达的机制, HHQ16 能显著升高肝脏 ORM 主要亚型 ORM1 的 mRNA 水平(图 3A), 提示 HHQ 可能在转录水平调控 ORM1 表达。据文献报道, ORM 的表达受 C/ebp- $\beta$ 、雄性激素受体(Ar)和雌性激素受体(Er)等转录因子调控<sup>[8-10]</sup>。检测这 3 个转录因子的表达水平, 发现 HHQ16 给药不影响 C/ebp $\beta$  的 mRNA 表达水平(图 3B), 但 Ar 的 mRNA 表达水平上升至原来的 2 倍左右(图 3C), 同时 Er- $\alpha$  的 mRNA 表达水平下降到原来的 1/2 左右(图 3D)。提示 HHQ 可能通过影响上游转录因子 Ar 和 Er 的表达, 进而升高肝细胞内 ORM 水平。

### 2.4 HHQ 通过 ORM 发挥改善肝细胞脂质损伤的作用

小鼠 ORM 共有 3 个亚型, 其中, ORM1 为肝脏中表达的主要亚型<sup>[5]</sup>。为验证 HHQ16 是否通过 ORM1 发挥药效, 设计了 ORM1 的 siRNA, 利用实时定量 PCR、Western blot 验证不同 siRNA 序列的干扰效率, 综合二者结果得出 siORM1-3 序列的干

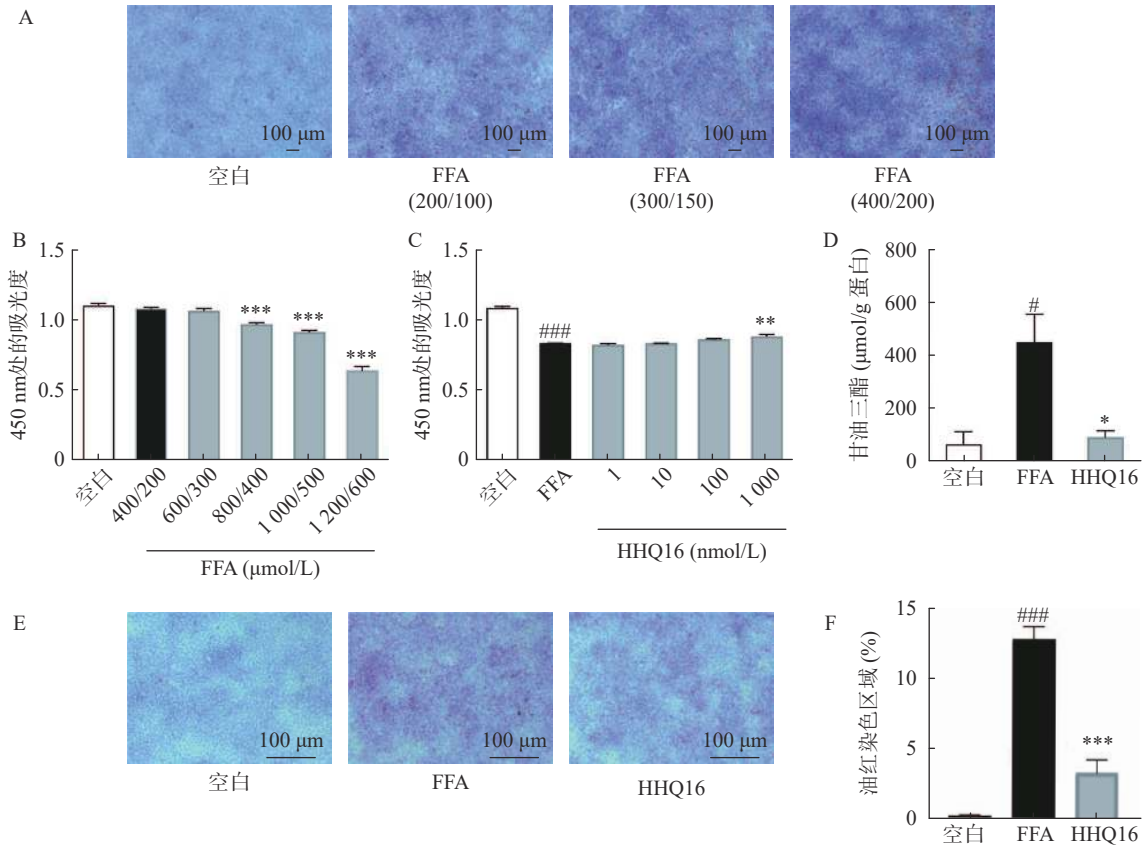


图1 HHQ16改善肝细胞脂质损伤

A. 不同浓度 FFA 造模后脂质沉积情况 ( $n=3$ ); B. 不同浓度 FFA 造模后肝细胞活力 ( $n=6$ ); C. HHQ16 恢复 FFA 损伤的肝细胞活力; D. HHQ16 (1 000 nmol/L) 降低甘油三酯水平 ( $n=3$ ), FFA (OA : PA=800  $\mu\text{mol/L}$  : 400  $\mu\text{mol/L}$ ); E、F. HHQ16 (1 000 nmol/L) 缓解 FFA 导致的脂质沉积 ( $n=3$ ), FFA (OA : PA=400  $\mu\text{mol/L}$  : 200  $\mu\text{mol/L}$ )  
\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , 与 FFA 组比较; # $P<0.05$ , ### $P<0.001$ , 与空白组比较。

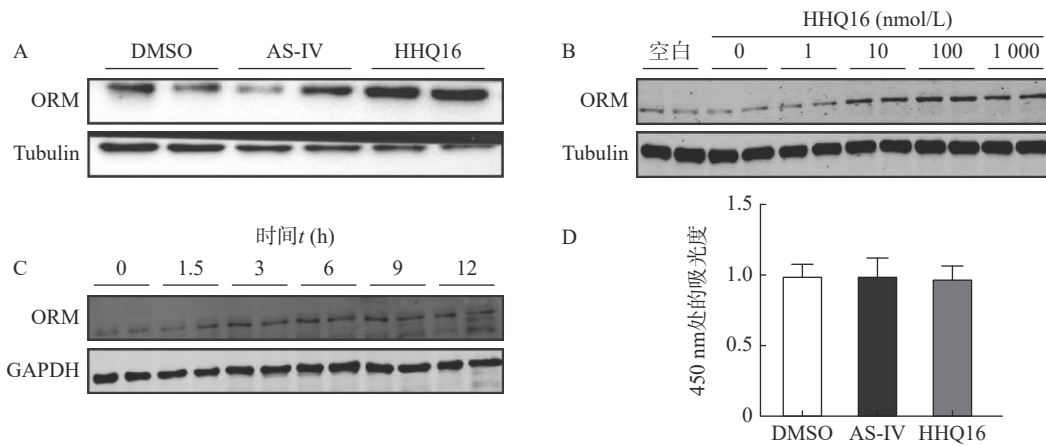


图2 HHQ16显著升高 ORM 表达

A. 黄芪甲苷 (AS-IV 100 nmol/L) 与 HHQ16 (100 nmol/L) 处理 AML12 肝细胞 24 h 对 ORM 蛋白表达的影响; B. HHQ 升高 AML12 肝细胞 ORM 表达的量效实验; C. HHQ 升高 AML12 肝细胞 ORM 表达的时效实验; D. 黄芪甲苷 (AS-IV 100 nmol/L) 与 HHQ (100 nmol/L) 处理 24 h 对 AML12 肝细胞活力的影响 ( $n=10$ )

扰效果最佳, 后续实验均采用 siORM1-3 序列 (图 4A、B), 发现 HHQ16 改善 FFA 诱导的 AML12 细胞脂质沉积的作用被逆转 (图 4C、D), 说明 HHQ 可能是通过调控 ORM1 来改善肝细胞脂质沉积的。

### 3 讨论

肝脏作为脂质与脂蛋白摄取、合成与分泌的主要器官, 在全身脂质循环中发挥着至关重要的作用。其中, 肝脏因子作为肝脏组织分泌的蛋白质,

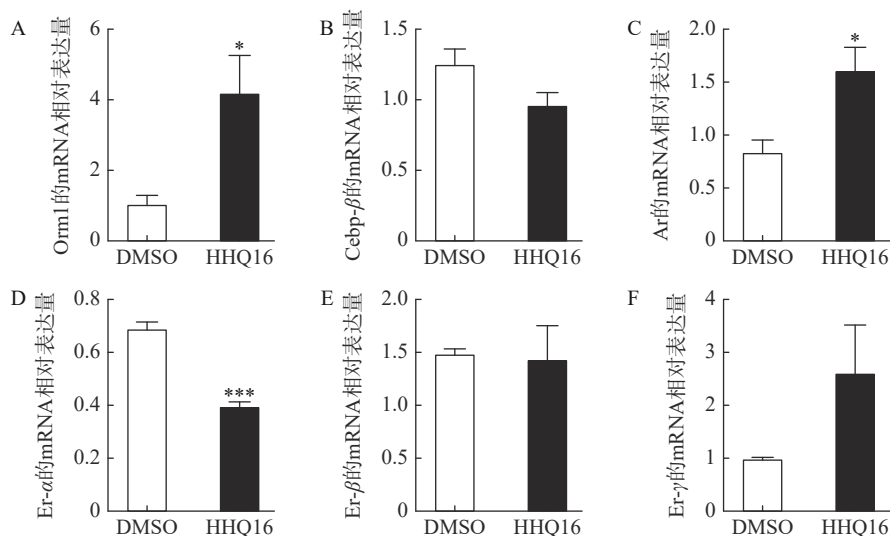


图3 HHQ16对ORM上游的影响(n=4)

A.HHQ16升高ORM mRNA水平; B.HHQ16不影响C/ebpβ mRNA水平;  
C.HHQ16升高Ar mRNA水平; D-F.HHQ16对Er mRNA水平的影响, D.Er-α, E.Er-β, F.Er-γ  
\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.001$ ,与DMSO组比较。

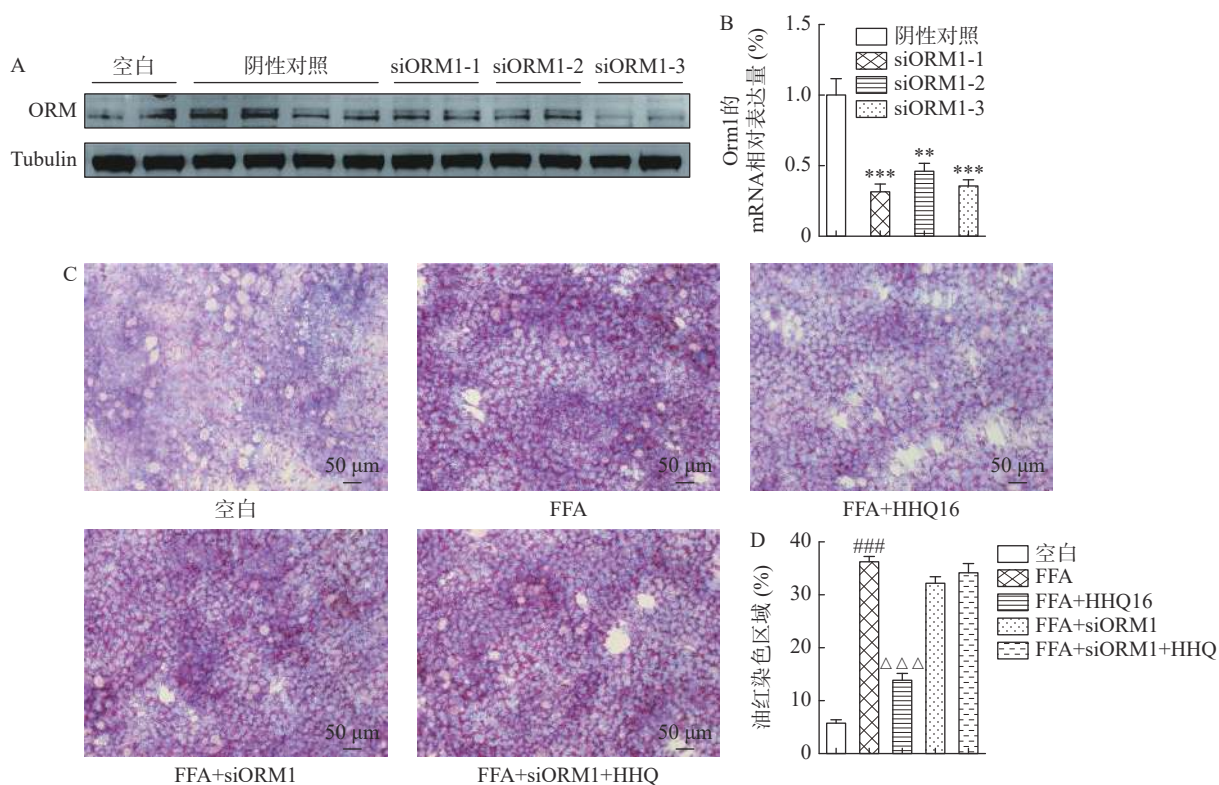


图4 HHQ通过ORM改善FFA诱导的肝细胞脂质损伤

A. siORM处理后ORM蛋白水平变化; B. siORM处理后mRNA水平变化(n=4); C、D. FFA、HHQ、siORM处理前后脂质沉积情况(n=3)  
\*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ ,与阴性对照组比较; ### $P<0.001$ ,与空白组比较; △△△ $P<0.001$ ,与FFA组比较。

除影响肝脏局部脂质代谢外,还可通过自分泌、旁分泌、内分泌等途径调节全身的脂质代谢。本课题组研究人员前期研究发现,肝脏因子ORM在能量代谢调控中发挥重要作用,ORM1敲除小鼠会出现严重脂肪肝<sup>[5]</sup>。Zhou等也报道了ORM2缺陷会导致肝内甘油三酯沉积、肝脂肪变性,而补充ORM2

能通过影响固醇调节元件来改善肝脏脂质代谢<sup>[7]</sup>。这些研究都提示,ORM有望成为治疗肝脏脂质代谢异常的新靶标。

传统中药在脂肪性肝病的治疗预防方面已经有数千年的治疗史,多种有效成分被发现具有降脂、抗氧化、缓解脂肪肝等作用,如水飞蓟素(水飞

蒺藜主要有效成分)可提高肝脏抗氧化能力,促进肝细胞修复与再生<sup>[11]</sup>;淫羊藿苷(中药淫羊藿的主要成分)可通过提高大鼠葡萄糖利用率与胰岛素敏感性,达到一定的降脂作用<sup>[12,13]</sup>;黄芪甲苷可通过增加胆固醇的排出<sup>[14]</sup>,降低肝脏与血液中的总胆固醇与甘油三酯水平<sup>[15]</sup>。然而,许多天然的活性成分不稳定,提取物的质量受光照、环境温度、湿度、时间等因素影响,这在一定程度上限制了中药提取物的临床应用。本课题组前期通过对黄芪的主要有效成分黄芪甲苷进行化学改造,得到化学稳定性更高,生物利用度更好的全新小分子药物 HHQ16。本文研究发现,黄芪甲苷衍生物 HHQ16 可以显著升高肝细胞 ORM 水平,并且对 ORM 的调控优于其前体黄芪甲苷。初步机制探索发现,HHQ16 可以升高转录因子 Ar 的水平,并降低 Er 表达。据文献报道,Ar 可通过结合 ORM1 增强子区域增强 ORM 的表达<sup>[8]</sup>,而 Er 激活后则通过 MAPK 通路抑制 ORM 表达<sup>[9]</sup>,提示 HHQ 可能通过多条途径提高 ORM 水平。同时,本研究发现,HHQ16 改善肝细胞脂质沉积的作用是由 ORM 介导的,初步阐明了 HHQ16 改善肝细胞脂质沉积的机制,为 HHQ16 进一步开发成为干预与治疗肝脏脂质代谢紊乱相关疾病的潜在药物提供了理论支撑。

### 【参考文献】

- [1] 胡伶姿,刘明坤,吕文良,等. 吕文良教授运用黄芪论治慢性肝病的经验 [J]. 吉林中医药, 2019, 39(2): 154-157.
- [2] 刘应莉,刘璇,王艳荣,等. 基于网络药理学探讨黄芪甲苷治疗非酒精性脂肪性肝病的作用机制 [J]. 现代医药卫生, 2023, 9(14): 2372-2378.
- [3] 代鲜敏,黄思,孙扬,等. 黄芪对非酒精性脂肪肝的影响及潜在机制 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(3): 222-225.
- [4] WAN J J, ZHANG Z, WU C N, et al. Astragaloside IV derivative HHQ16 ameliorates infarction-induced hypertrophy and heart failure through degradation of lncRNA4012/9456[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 414.
- [5] LUO Z M, LEI H, SUN Y, et al. Orosomucoid, an acute response protein with multiple modulating activities[J]. *J Physiol Biochem*, 2015, 71(2): 329-340.
- [6] SUN Y, YANG Y L, QIN Z, et al. The acute-phase protein orosomucoid regulates food intake and energy homeostasis via leptin receptor signaling pathway[J]. *Diabetes*, 2016, 65(6): 1630-1641.
- [7] ZHOU B, LUO Y C, JI N N, et al. Orosomucoid 2 maintains hepatic lipid homeostasis through suppression of de novo lipogenesis[J]. *Nat Metab*, 2022, 4: 1185-1201.
- [8] NORRIS J D, CHANG C Y, WITTMANN B M, et al. The homeodomain protein HOXB13 regulates the cellular response to androgens[J]. *Mol Cell*, 2009, 36(3): 405-416.
- [9] SUN Y, QIN Z, WAN J J, et al. Estrogen weakens muscle endurance via estrogen receptor-p38 MAPK-mediated orosomucoid (ORM) suppression[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(3): e463.
- [10] FOURNIER T, MEDJOUBI-N N, PORQUET D. Alpha-1-acid glycoprotein[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1482(1-2): 157-171.
- [11] 张娟,白庆云,田丽莉. 水飞蓟素防治实验性肝病的作用及相关临床应用的研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2023, 9(19): 2745-2753.
- [12] 刘蕊,赵健蕾,孙晓东,等. 中药淫羊藿调控肝脏脂代谢功能初探 [J]. 中药药理与临床, 2018, 34(1): 92-96.
- [13] 张悦,王佳艺,刘慧敏,等. 淫羊藿及其制剂主要化学成分与肝损伤作用研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(21): 7213-7221.
- [14] LIU H M, ZHU L, CHEN L X, et al. Therapeutic potential of traditional Chinese medicine in atherosclerosis: a review[J]. *Phytother Res*, 2022, 36(11): 4080-4100.
- [15] 祁雅焯,黄文雅. 中药治疗单纯性肥胖研究进展 [J]. 中西医结合研究, 2023, 15(3): 191-194.

【收稿日期】 2023-09-14 【修回日期】 2024-02-17

【本文编辑】 李睿旻