

白藜芦醇减轻脑缺血再灌注损伤与激活 Wnt/ β -catenin 相关

汤海波*

四川大学华西第四医院, 成都 610000

摘要: 研究白藜芦醇对脑缺血再灌注损伤的作用及机制。利用结扎大脑中动脉的方法制备局灶脑缺血再灌注损伤模型。将实验大鼠随机分为假手术组, 脑缺血再灌注损伤组, 白藜芦醇组和尼莫地平组, 观察白藜芦醇对大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、单核细胞趋化因子-1 (MCP-1)、白介素-6 (IL-6)、Wnt/ β -catenin、Bax 和 BCL-2 的表达以及对大鼠神经行为和脑梗死面积的影响。结果显示白藜芦醇可明显改善大鼠神经功能缺陷和减少脑梗死面积, 并可上调 Wnt/ β -catenin、cyclin D1、survivin 和 BCL-2 的表达, 下调促炎症细胞因子 TNF- α 、MCP-1 和 IL-6 的表达。说明白藜芦醇可激活 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥对脑缺血再灌注损伤的保护作用。

关键词: 白藜芦醇; 脑缺血再灌注损伤; Wnt/ β -catenin

中图分类号: R605.97

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.2.005

Neuroprotective Role of Resveratrol on Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats is Associated with Activating Wnt/ β -catenin Signaling Pathway

TANG Hai-bo*

West China fourth hospital, Sichuan University, Chengdu 610000, China

Abstract: The objective of this study was to observe the effect and mechanism of resveratrol on cerebral ischemia reperfusion injury in rats. The Model of cerebral ischemia-reperfusion injury were induced by ligating middle cerebral artery in rats. The rats for study was randomly divided into Sham group, cerebral ischemia reperfusion injury (IRI), Resveratrol group (RSV) and Nimodipine group (NIM). The effect of RSV on the cerebral infarct volume and nervous behavior were evaluated. the expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), Monocyte chemotaxis factor-1 (MCP-1), interleukin-6 (IL-6), Wnt/ β -catenin, cyclin D1, surviving, Bax and BCL-2 were examined. The result showed that resveratrol could significantly improve the nervous behavior, decrease cerebral infarct volume and attenuate the expression of TNF- α , MCP-1, IL-6 and Bax with increasing the expression of Wnt/ β -catenin, cyclin D1, survivin and BCL-2 ($P < 0.05$). Therefore, it can be concluded that resveratrol can decrease cerebral ischemia-reperfusion injury by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Key words: resveratrol; cerebral ischemia-reperfusion injury; Wnt/ β -catenin

缺血性脑卒中是脑卒中的首要形式, 目前占据中枢神经系统脑血管疾病发病率的首位, 大约占有脑血管疾病发病率的 50% ~ 60%。该病具有典型的高发病率, 高致残率和高死亡率的特点, 其致死率甚至仅次于心血管疾病和癌症^[1,2]。但目前尚无有效的治疗措施^[2]。白藜芦醇是一种多酚类物质, 对实质器官损伤具有保护作用, 但对脑 IRI (缺血再灌注损伤 ischemia-reperfusion injury, IRI) 的作用尚不清楚^[3-5], 本实验通过观察白藜芦醇对 IRI 的保护作用以及脑组织炎症, 凋亡和 Wnt/ β -catenin 信号通

路的影响, 以探讨其对 IRI 作用, 并初步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 体重 (220 \pm 30) g, 由武汉大学实验动物中心提供。动物许可证号: SCXK (鄂) 2013-0002。

1.2 主要药物及试剂

白介素-6 (IL-6), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 单核细胞趋化因子 1 (MCP-1), ELISA 检测盒 (Ebioscience, USA), 白藜芦醇 (Sigma, 纯度 > 99.5%) 用 DMSO 溶解。BCL-2 (CST, USA), Bax (CST, USA),

β -actin (abgent, USA), Wnt (CST, USA), β -catenin (CST, USA), cyclin D1 (CST, USA), survivin (CST, USA)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物分组

将 60 只健康大鼠随机均分为 6 组,每组 10 只,分别为:假手术组 (Sham), 脑缺血再灌注损伤组 (IRI), 白藜芦醇 (10, 20, 40 mg/kg) 组 (RSV) 和尼莫地平组 (NIM), Sham 组和 IRI 组术前 1 h 腹腔注射等容量的生理盐水, RSV 组术前 1 h 分别腹腔注射注射 (10, 20, 40 mg/kg) 的 RSV, 尼莫地平作为阳性对照组, 术前 1 h 腹腔注射 5 mg/kg 尼莫地平。

表 1 实时定量 PCR 检测的引物序列

Table 1 Primer sequence for PCR analysis

基因 Gene	种属 Species	正义链 Sense primer	反义链 Antisense primer
TNF- α	大鼠 Rat	CTGAACTTCGGGGTGATCGG	GGCTTGCTACTCGAATTTGAGA
MCP-1	大鼠 Rat	CTGCAAGAGACTTCCATCCAG	ACTGCTATAGACAGGTCTGTTG
IL-6	大鼠 Rat	AGCTTCCTTGTCAGAGTGTC	GACAGCCCAGGTCAAAGGTT
β -actin	大鼠 Rat	GACAAAATATCAGTGTGAATTCACGC	CCCAATAGCCGTATCAGGAAGG

1.3.5 ELISA 检测

按照 ELISA 试剂盒说明书操作步骤检测血清中 IL-6、TNF- α 、MCP-1 表达水平。

1.3.6 Western blot 检测脑组织 Wnt、 β -catenin、cyclin D1、survivin、Bax 和 BCL-2 表达

取各组脑组织 50 mg, 利用 Western blot 方法检测脑组织 Wnt、 β -catenin、cyclin D1, survivin、Bax 和 BCL-2 表达, 具体步骤参考文献^[7]。

1.4 统计学方法

数据用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 SPSS13.0 软件进行统计分析, 多组计量资料采用单

1.3.2 脑缺血再灌注损伤动物模型的构建

参照 Longa Z 方法^[6] 通过结扎、大脑中动脉的方法制备局灶脑缺血再灌注损伤模型, 具体方法参考文献^[6]。

1.3.3 神经症状评分和脑梗死范围

参照 Longa Z 5 分制标准进行评分, 具体方法参考文献^[6]。

1.3.4 RT-PCR 检测

RT-PCR 检测各组脑组织 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 的表达水平, 具体方法参考文献^[7]。实时定量 PCR 检测的引物序列见表 1。

因素方差分析; 方差齐者采用 LSD 法检验, 方差不齐者采用 Games-Howell 法检验。

2 实验结果

2.1 白藜芦醇对脑 I/R 损伤大鼠神经功能评分和脑梗死面积的影响

缺血 2 h 再灌注 24 h 后, 对各组大鼠进行神经行为学评分以及脑梗死面积的检测, 与 Sham 组相比, IRI 组神经行为评分和脑梗死面积均明显增加 ($P < 0.05$); 与 IRI 组相比, 白藜芦醇组神经行为评分和脑梗死面积均明显降低神经功能缺损评分均显

表 2 白藜芦醇对脑梗死面积和神经功能评分的影响

Table 2 The effect of RSV on the cerebral infarction volume and neurological behavior

Groups	Number	Cerebral infarction (%)	Neurological symptoms
Sham	10	0 \pm 0	0 \pm 0
IRI	10	33.18 \pm 4.15 ^{***}	2.93 \pm 0.66 ^{***}
RSV (10 mg/kg)	10	25.33 \pm 3.05 [#]	2.23 \pm 0.51 [#]
RSV (20 mg/kg)	10	18.13 \pm 2.58 [#]	2.01 \pm 0.42 [#]
RSV (40 mg/kg)	10	14.34 \pm 2.16 ^{##}	1.82 \pm 0.35 [#]
NIM (5 mg/kg)	10	11.22 \pm 1.68 ^{^^}	1.32 \pm 0.21 ^{^^}

注: IRI 组与 Sham 组相比, ^{***} $P < 0.001$, ^{*} $P < 0.05$; IRI 组与 RSV 组相比, [#] $P < 0.05$; NIM 组与 RSV 组相比, ^{^^} $P < 0.05$ 。

Note: IRI group vs Sham group, ^{***} $P < 0.001$, ^{*} $P < 0.05$; IRI group vs RSV group, [#] $P < 0.05$; NIM group vs RSV group, ^{^^} $P < 0.05$.

著降低($P < 0.05$),而 40 mg/kg 组下降幅度最明显。与白藜芦醇 40 mg/kg 组相比,阳性对照组尼莫地平组神经行为评分和脑梗死面积下降更明显($P < 0.05$);结果显示白藜芦醇剂量在 10 ~ 40 mg/kg 的范围内,呈剂量依赖性减轻脑缺血再灌注损伤,其最佳浓度为 40 mg/kg,见表 2。

2.2 白藜芦醇对脑 I/R 损伤大鼠 Wnt 和 β -catenin 表达的影响

由脑梗死面积和神经行为评分结果的知,白藜芦醇(40 mg/kg)对大鼠 IRI 具有最佳的保护效果保护作用,因此选用白藜芦醇高剂量(40 mg/kg)应用于进一步的机制研究。应用免疫蛋白印记技术(Western blot)检测白藜芦醇对 Wnt、 β -catenin、p53 蛋白表达影响。结果显示:与 Sham 组相比,IRI 组 Wnt、 β -catenin 蛋白表达轻度增高($P < 0.05$);RSV 组较 IRI 组 Wnt、 β -catenin 蛋白表达进一步增高($P < 0.05$);NIM 组较 RSV 组 Wnt、 β -catenin 蛋白表达水平进一步增高($P < 0.05$)。该结果提示白藜芦醇可以促进 Wnt/ β -catenin 信号通路激活,见图 1 和表 3。

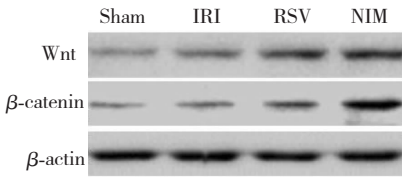


图 1 Western Blot 检测白藜芦醇对 Wnt、 β -catenin 蛋白表达水平影响

Fig. 1 The effect of RSV on the expression of Wnt and β -catenin examined by Western Blot

表 3 白藜芦醇对 Wnt、 β -catenin 蛋白表达水平的影响
Table 3 The effect of RSV on the expression of Wnt and β -catenin

组别 Group	只 Number	Wnt/ β -actin	β -catenin/ β -actin
Sham	10	0.11 ± 0.03	0.07 ± 0.02
IRI	10	0.23 ± 0.04*	0.12 ± 0.03*
RSV	10	0.35 ± 0.04#	0.27 ± 0.03#
NIM	10	0.51 ± 0.06^	0.61 ± 0.05^

注:IRI 组与 Sham 组相比,* $P < 0.05$;IRI 组与 RSV 组相比,# $P < 0.05$;NIM 组与 RSV 组相比,^ $P < 0.05$ 。

Note:IRI group vs Sham group,* $P < 0.05$;IRI group vs RSV group,# $P < 0.05$;NIM group vs RSVgroup,^ $P < 0.05$ 。

2.3 白藜芦醇对脑 I/R 损伤大鼠 cyclin D1 和 survivin 的表达影响

Cyclin D1 和 survivin 是 Wnt/ β -catenin 信号通路激活的定向靶向基因^[8]。Western blot 检测白藜

芦醇对 cyclin D1 和 survivin 蛋白表达影响。结果显示:与 Sham 组相比,IRI 组 cyclin D1 和 survivin 蛋白表达轻度增高($P < 0.05$);RSV 组较 IRI 组 cyclin D1 和 survivin 蛋白表达进一步增高($P < 0.05$);NIM 组较 RSV 组 cyclin D1 和 survivin 蛋白表达水平进一步增高($P < 0.05$)。该结果提示白藜芦醇可以促进 cyclin D1 和 surviving 表达,见图 2 和表 4。

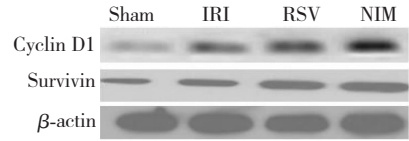


图 2 Western Blot 检测白藜芦醇对 cyclin D1 和 survivin 蛋白表达影响

Fig. 2 The effect of RSV on the expression of cyclin D1 and survivin examined by Western Blot

表 4 白藜芦醇对 cyclin D1 和 survivin 蛋白表达水平影响
Table 4 The effect of RSV on the expression of cyclin D1 and survivin

组别 Group	只 Number	CyclinD1/ β -actin	Survive/ β -actin
Sham	10	0.07 ± 0.02	0.11 ± 0.02
IRI	10	0.19 ± 0.03*	0.21 ± 0.03*
RSV	10	0.28 ± 0.03#	0.36 ± 0.05#
NIM		0.38 ± 0.05^	0.47 ± 0.07^

注:IRI 组与 Sham 组相比,* $P < 0.05$;IRI 组与 RSV 组相比,# $P < 0.05$;NIM 组与 RSV 组相比,^ $P < 0.05$ 。

Note:IRI group vs Sham group,* $P < 0.05$;IRI group vs RSV group,# $P < 0.05$;NIM group vs RSVgroup,^ $P < 0.05$ 。

2.4 白藜芦醇对脑 I/R 损伤大鼠 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

采用 Western blot 检测白藜芦醇对 Bcl-2 和 Bax 的蛋白表达影响,实验结果显示:与 Sham 组相比,IRI 组组 Bax/Bcl-2 的比值增高($P < 0.05$);RSV 预处理后可下调 Bax/Bcl-2 的比值($P < 0.05$);而 NIM 组可进一步降低脑 IRI 脑组织中 Bax/Bcl-2 的比值($P < 0.05$),见图 3 和表 5。

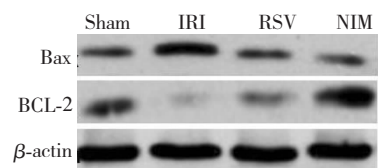


图 3 Western Blot 检测白藜芦醇对 Bax 和 BCL-2 蛋白表达的影响

Fig. 3 The effect of RSV on the expression of Bax and BCL-2 examined by Western Blot

表5 白藜芦醇对 Bax 和 BCL-2 蛋白表达影响

Table 5 The effect of RSV on the expression of Bax and BCL-2

组别 Group	只 Number	Bax/ β -actin	BCL-2/ β -actin	Bax/ BCL-2
Sham	10	0.11 \pm 0.01	0.41 \pm 0.04	0.22 \pm 0.03
IRI	10	0.42 \pm 0.05***	0.07 \pm 0.02*	0.71 \pm 0.08*
RSV	10	0.29 \pm 0.03#	0.11 \pm 0.03#	0.46 \pm 0.05#
NIM	10	0.22 \pm 0.03^	0.31 \pm 0.04^	0.39 \pm 0.04^

注:IRI 组与 Sham 组相比, * $P < 0.05$; IRI 组与 RSV 组相比, # $P < 0.05$; NIM 组与 RSV 组相比, ^ $P < 0.05$ 。

Note: IRI group vs Sham group, * $P < 0.05$; IRI group vs RSV group, # $P < 0.05$; NIM group vs RSV group, ^ $P < 0.05$ 。

2.5 白藜芦醇对脑 I/R 损伤大鼠促炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达的影响

采用 ELISA 和 RT-PCR 检测白藜芦醇对脑 I/R 损伤大鼠促炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达的影响。结果显示:IRI 组 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 较 Sham 组显著增加 ($P < 0.05$); RSV 预处理后可明显降低 IRI 导致的 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达增高

表6 RT-PCR 检测白藜芦醇预处理对促炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 mRNA 表达水平的影响

Table 6 The effect of RSV on the mRNA level of TNF- α , IL-6 and MCP-1 were examined by RT-PCR

组别 Group	只 Number	TNF- (mRNA)	IL-6 (mRNA)	MCP-1 (mRNA)
Sham	10	1 \pm 0.1	1 \pm 0.05	0.95 \pm 0.1
IRI	10	12 \pm 1.5***	5 \pm 0.4*	7.5 \pm 0.75*
RSV	10	7 \pm 0.6#	2.5 \pm 0.5#	3.5 \pm 0.5#
NIM	10	4.5 \pm 0.4^	1.5 \pm 0.3^	2.1 \pm 0.3^

注:IRI 组与 Sham 组相比, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$; IRI 组与 RSV 组相比, # $P < 0.05$; NIM 组与 RSV 组相比, ^ $P < 0.05$ 。

Note: IRI group vs Sham group, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$; IRI group vs RSV group, # $P < 0.05$; NIM group vs RSV group, ^ $P < 0.05$ 。

表7 白藜芦醇预处理对促炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 分泌水平的影响

Table 7 The effect of RSV on the secretion level of TNF- α , IL-6 and MCP-1

组别 Group	只 Number	TNF- (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	MCP-1 (pg/mL)
Sham	10	100 \pm 10	110 \pm 20	100 \pm 25
IRI	10	1500 \pm 200***	650 \pm 50*	950 \pm 50*
RSV	10	550 \pm 150#	320 \pm 30#	400 \pm 40#
NIM	10	450 \pm 110^	250 \pm 25^	320 \pm 30^

注:IRI 组与 Sham 组相比, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$; IRI 组与 RSV 组相比, # $P < 0.05$; NIM 组与 RSV 组相比, ^ $P < 0.05$ 。

Note: IRI group vs Sham group, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$; IRI group vs RSV group, # $P < 0.05$; NIM group vs RSV group, ^ $P < 0.05$ 。

($P < 0.05$); NIM 组较 RSV 组 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达进一步降低 ($P < 0.05$), 见表 6、7。

3 讨论

缺血性脑病在世界范围内目前已成为中枢神经系统发病与致死的重要原因^[1-3]。既往研究显示,脑组织过度炎症反应和凋亡在 IRI 过程中起着重要作用^[1,2]。因此抑制 IRI 过程中炎症反应和细胞凋亡是防止 IRI 的有效途径。

白藜芦醇是从花生、葡萄、浆果等植物中提取的一种活性很强的多酚类物质^[3,4]。近年来药理学研究发现,白藜芦醇具有降低血糖,抗动脉粥样硬化,拮抗血小板聚集和抗肿瘤等生物学活性^[3-5]。本研究利用结扎大脑中动脉的方式诱导大鼠脑缺血再灌注损伤。通过评估缺血性脑损伤大鼠脑梗死面积和神经行为学证实白藜芦醇对脑 IRI 损伤有保护作用,进一步证实了白藜芦醇可减轻缺血再灌注损伤。此外,在研究中发现,白藜芦醇剂量在 10 ~ 40 mg/kg 范围内,对脑 IRI 的保护呈剂量依赖性,在最高剂量(40 mg/kg),获得最佳保护效果,因此本研究选用最高剂量的白藜芦醇(40 mg/kg)进行后续机制研究。

细胞凋亡是脑缺血缺血再灌注损伤的重要致病机制^[9,10]。本研究选用 Bax 和 Bcl-2 来研究脑细胞凋亡。Bax 和 BCL-2 都属于 BCL-2 家族成员。两者之间呈现动态的平衡。Bax 属于促凋亡基因,可促进细胞凋亡,而 BCL-2 属于抗凋亡基因,具有抗细胞凋亡和促进细胞生存;为便于研究,因此, Bax/Bcl-2 之比常被研究者作为衡量细胞凋亡的重要标志^[9]。蛋白结果检测显示,与 Sham 组相比,IRI 组 Bax/Bcl-2 的比值增高,RSV 预处理后可显著下调 Bax/Bcl-2 的比值;而 NIM 组则可进一步降低脑 IRI 组织中 Bax/Bcl-2 的比值,因此本研究表明白藜芦醇在脑再灌注损伤的早期阶段的抗凋亡活性可能有助于减轻脑功能的受损。

急性缺血性脑梗死后脑细胞坏死会诱发 TNF- α 从梗死的脑细胞中释放出来。而释放的 TNF- α 则可进一步刺激促炎细胞因子,如 IL-6、趋化因子(MCP-1)、黏附分子等从浸润的内皮细胞和白细胞中释放,诱发细胞因子炎症级联反应^[10]。因此 TNF- α 、MCP-1 和 IL-6 等促炎细胞因子是导致脑功能受损的主要致病因子。实验结果显示,与 Sham 组相比,IRI 组 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达明显增

加,而 RSV 预处理可明显减少 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达,NIM 则可进一步减少 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达。因此,白藜芦醇,抑制炎症反应可能是其减轻脑缺血再灌注损伤的途径之一。

上述结果证实白藜芦醇可通过抑制炎症和细胞凋亡减轻脑缺血再灌注损伤。Wnt/ β -catenin 信号途径是一经典信号转导通路,在介导多种肿瘤发生,发展以及胚胎发育过程起着重要作用^[11]。cyclin D1 和 survivin 是 Wnt/ β -catenin 信号途径激活的定向靶向基因^[11]。最近研究发现,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路在缺血性疾病中可减轻炎症和抑制细胞凋亡。本研究显示:白藜芦醇可以促进 Wnt/ β -catenin 激活和定向靶向基因 cyclin D1 和 survivin 的表达,而 NIM 可进一步促进 Wnt/ β -catenin 信号通路激活以及定向靶向基因 cyclin D1 和 survivin 的表达。

综上所述,我们可推测白藜芦醇可通过促进 Wnt/ β -catenin 信号通路激活而减轻脑细胞凋亡,抑制抑制促炎症细胞因子的表达而减轻脑缺血再灌注损伤。因此,本研究为临床诊疗过程中应用白藜芦醇处理脑缺血再灌注损伤提供了理论佐证。

参考文献

- 1 Kotlega D, Gołab-Janowska M, Masztalewicz M, et al. The emotional stress and risk of ischemic stroke. *Neurol Neurochir Pol*, 2016, 50:265-270.
- 2 Khandelwal P, Yavagal DR, Sacco R. Acute ischemic stroke intervention. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67:2631-2644.
- 3 Neves AR, Nunes C, Reis S. New Insights on the biophysical interaction of resveratrol with biomembrane models: Relevance for its biological effects. *J Phys Chem B*, 2015, 119:

11664-11672.

- 4 Jeong JH, Lee YR, Park HG, et al. The effects of either resveratrol or exercise on macrophage infiltration and switching from M1 to M2 in high fat diet mice. *J Exerc Nutr Biochem*, 2015, 19:65-72.
- 5 Zhang Q, Yuan L, Zhang Q, et al. Resveratrol attenuates hypoxia-induced neurotoxicity through inhibiting microglial activation. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28:578-587.
- 6 Liu H, Wei X, Kong L, et al. NOD2 is involved in the inflammatory response after cerebral ischemia-reperfusion injury and triggers NADPH oxidase 2-derived reactive oxygen species. *Int J Biol Sci*, 2015, 11:525-535.
- 7 Liu FF, Liu CY, Li XP, et al. Neuroprotective effects of SMADs in a rat model of cerebral ischemia/reperfusion. *Neural Regen Res*, 2015, 10:438-444.
- 8 Liu G, Wang T, Wang T, et al. Effects of apoptosis-related proteins caspase-3, Bax and Bcl-2 on cerebral ischemia rats. *Biomed Rep*, 2013, 1:861-867.
- 9 Huang X, Choi JK, Park SR, et al. GM-CSF inhibits apoptosis of neural cells via regulating the expression of apoptosis-related proteins. *Neurosci Res*, 2007, 58:50-57.
- 10 García de la Cadena S, Massieu L. Caspases and their role in inflammation and ischemic neuronal death. Focus on caspase-12. *Apoptosis*, 2016, 21:763-777.
- 11 Shan BE, Wang MX, Li RQ, et al. Quercetin inhibit human SW480 colon cancer growth in association with inhibition of cyclin D1 and survivin expression through Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Cancer Invest*, 2009, 27:604-612.
- 12 Liu B, Zhang R, Tao G, et al. Augmented Wnt signaling as a therapeutic tool to prevent ischemia/reperfusion injury in liver: Preclinical studies in a mouse model. *Liver Transpl*, 2015, 21:1533-1542.

(上接第 205 页)

- 19 Zhu YT, Ren XY, Yuan L, et al. Fast identification of lipase inhibitors in oolong tea by using lipase functionalised Fe₃O₄ magnetic nanoparticles coupled with UPLC-MS/MS. *Food Chem*, 2015, 173:521-526.
- 20 Peng W, Qin R, Li X, et al. Botany, phytochemistry, pharmacology, and potential application of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.: a review. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148:729-745.
- 21 Shen LL(沈路路), Lu Y(卢燕), Cheng ZH(程志红), et al. Anti-complementary anthraquinones from *Polygonum cuspidatum* and their action targets. *Chin Tradit Herb Drugs*(中

草药), 2013, 44:2502-2507.

- 22 Yang H(杨航), Yin CM(尹春梅), Jiao LQ(焦连庆), et al. Study on HPLC-DAD-ELSD fingerprint of *Polygoni cuspidati* Rhizoma et Radix. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2015, 46:1830-1835.
- 23 Kim YS, Lee YM, Kim JH, et al. *Polygonum cuspidatum* inhibits pancreatic lipase activity and adipogenesis via attenuation of lipid accumulation. *Bmc Complem Altern M*, 2013, 13.
- 24 Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K, et al. Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and *Pseudomonas*. *Biosci Biotech Bioch*, 1997, 61:102-104.