

泽泻汤加味方对高脂血症大鼠 AQP3 基因蛋白表达的影响

王亚芬¹, 韩雪², 张一昕^{2*}, 段思明², 郝蕾², 王茜², 刘晨旭²

¹河北医科大学, 石家庄 050017; ²河北中医学院, 石家庄 050200

摘要:通过观察泽泻汤加味方对高脂血症大鼠血脂以及结肠组织水通道蛋白3(AQP3)表达的影响,探讨其作用机制。将60只雄性SD大鼠随机分为空白组、模型组、辛伐他汀对照组、泽泻汤加味方高、中、低剂量组,采用喂饲高脂饲料方法复制动物模型,造模的同时给予相应药物治疗。用药5周以后,观察大鼠血清中TG、TC、HDL-C、LDL-C含量的变化,运用RT-PCR方法检测了大鼠结肠组织AQP3基因表达情况,运用免疫组化和Western Blot方法检测了大鼠结肠组织AQP3蛋白的表达情况。结果显示,模型组大鼠血脂中TG、TC、LDL-C的含量及结肠中AQP3基因蛋白的表达明显升高,HDL-C含量显著降低。各治疗组大鼠血脂中TG、TC、LDL-C的含量及结肠组织AQP3基因蛋白的表达均降低,HDL-C含量升高。提示泽泻汤加味方对高脂血症大鼠血脂具有良好的调节作用,其通过上调结肠组织AQP3基因、蛋白的表达,以调节水液代谢,阻止痰湿的生成,祛除致病因素,可能是其治疗高脂血症的分子机制之一。

关键词:泽泻汤加味方;高脂血症;水通道蛋白3;实验研究

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.10.007

Effects of Modified Rhizoma Alismatis Decoction on Expression of AQP3 in Rats with Hyperlipidemia

WANG Ya-fen¹, HAN Xue², ZHANG Yi-xin^{2*}, DUAN Si-ming², HAO Lei², WANG Xi², LIU Chen-xu²

¹Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; ²Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

Abstract: To discuss the mechanism of modified Rhizoma Alismatis Decoction on prevention and treatment of hyperlipidemia, through investigating hepatic expressions of AQP3 in rats with hyperlipidemia. 60 Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 6 groups: Control group, Model control group, Simvastatin control group, High-dose of modified Rhizoma Alismatis Decoction group, Middle-dose of modified Rhizoma Alismatis Decoction group, Low-dose of modified Rhizoma Alismatis Decoction group. Rats in control group were fed with ordinary forage, and the others were fed with high-fat forage. At the same time, each treatment group was administrated with appropriate drug. Then TC, TG, HDL-C and LDL-C of serum were detected, the genetic expression of AQP3 in colon tissue were detected with RT-PCR and the protein expression of AQP3 in colon tissue were detected with immunohistochemical means and Western Blot after 5 weeks. In the model control group, the content of TG, TC, LDL-C in serum and the expression of AQP3 in colon tissue were significantly elevated, while the content of HDL-C was significantly reduced. After treatment, the contents of TG, TC, LDL-C and the expression of AQP3 in every treatment groups were reduced, while the contents of HDL-C were elevated. Modified Rhizoma Alismatis decoction had a satisfying effect on regulating the blood lipid. Increasing the genetic and protein expression of AQP3 in colon tissue, regulating the water fluid metabolism, preventing the formation of sputum and removing the pathogenic factors could be viewed as mechanisms of modified Rhizoma Alismatis Decoction concerning prevention and treatment of hyperlipidemia.

Key words: modified Rhizoma Alismatis decoction; hyperlipidemia; AQP3; experimental research

高脂血症(Hyperlipidemia, HLP)为临床常见的

以一种或多种脂质成分表现异常的疾病,与脂肪肝、动脉粥样硬化、冠心病和脑卒中等疾病的发生具有密切的相关性,威胁着人们的身体健康^[1]。临床研究认为脾失健运,湿聚痰生,壅滞血脉为其主要发病机制^[2]。水通道蛋白(Aquaporin, AQP)是在机体

收稿日期:2017-05-10 修回日期:2017-07-10

基金项目:河北省中医药管理局科学技术研究计划(20150030);

河北省高等学校科学技术研究项目(QN2015251)

*通信作者: Tel:86-311-89926308; E-mail:hbzyx123@163.com

水液代谢中起着重要作用的跨膜转运蛋白, AQP3 的表达异常则导致体内的水湿停聚^[3]。HLP 的发生是否与 AQP3 的表达异常有关, 泽泻汤加味方治疗 HLP 是否通过调控 AQP3 的表达来实现, 目前尚未见相关报道。中医认为“大肠主津”, 大肠传导失司、结肠重吸收水分的功能失调会导致水湿停聚, 故本项实验研究观察了泽泻汤加味方对 HLP 大鼠血脂及结肠组织 AQP3 基因、蛋白表达的影响, 以期明确其防治 HLP 的作用靶点和作用机制。

1 材料与仪器

1.1 实验动物

由河北省实验动物中心提供, 健康雄性清洁级 SD 大鼠 60 只, 体重 160 ~ 180 g, 动物许可证号: SCXK(冀)2013-1-003。

1.2 实验药物

泽泻汤加味方的组成: 泽泻 50 g、白术 20 g、荷叶 10 g(广东一方制药有限公司生产的中药配方颗粒, 产品批号分别为: 5073461、5063421、505037T,) 将上述药物用 100 °C 蒸馏水充分溶解, 冷却后冷藏备用。辛伐他汀片(石药集团, 生产批号: 380150701, 国药准字: H20093007), 加入到 0.5% 羧甲基纤维素钠混悬液中搅匀, 冷藏备用。

1.3 实验试剂

TC、TG、二抗山羊抗兔、SP9001 试剂盒及 DAB 显色剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司, HDL-C、LDL-C 试剂盒购自长春汇力生物技术有限公司, 总 RNA 提取试剂、cDNA 合成试剂盒、PCR 反应体系、DNA 标准购自 Takara 公司, 一抗 AQP3 兔抗 IgG 多克隆抗体购自美国 bioworld 公司。

1.4 实验仪器

Humalyzer2000 半自动生化分析仪(德国毫迈克公司)、PE9600 型 PCR 扩增仪(美国 P E 公司)、电泳仪及电泳槽(北京六一生物科技有限公司)、紫外透射仪(北京鼎国生物有限责任公司)、UVP 凝胶成像系统(Thermo 公司)、半干转膜仪系统(日本 AT-TO 公司)、紫外可见分光光度计(美国 MILTON ROY 公司)、转移脱色摇床(海门其林贝尔仪器制造有限公司)。

2 实验方法

2.1 实验分组与造模

将 60 只 SD 大鼠适应性喂养一周后, 按体重分

层原则随机分为 6 组, 每组 10 只, 即: 正常组、模型组、辛伐他汀对照组(简称对照组)、泽泻汤加味方高、中、低三个剂量组(简称高、中、低剂量组)。除正常组喂饲普通饲料以外, 其余各组均喂饲高脂饲料^[4](胆固醇 1.5%、猪油 10%、猪胆酸钠 0.5%、普通饲料 88%, 由河北省实验动物中心加工)。

2.2 给药方法

从造模第 1 日起, 正常组与模型组灌服蒸馏水, 各治疗组灌服对照药或治疗药, 高、中、低剂量组每日用药剂量分别为 29.56、14.78、7.39 g/kg、对照组为 1.89 mg/kg。每日灌胃一次, 用药体积均按 1 mL/100 g 计算, 共用药治疗 5 周。

2.3 样本采集

用药后第 5 周末, 大鼠禁食 24 h, 麻醉后股动脉取血, 将血样离心, 分离血清待检。然后迅速剖取肝脏和结肠, 先取适当大小的肝组织和结肠组织, 剪开冲洗干净后, 液氮保存, 以备观察 AQP3、AQP3 mRNA 的表达, 再取适当大小的肝组织和结肠组织放入 4% 多聚甲醛液中固定, 以备免疫组化观察。

2.4 检测方法

2.4.1 血清生化指标检测

股动脉取血, 室温静置 30 min 后, 4 °C、3000 rpm 离心 10 min, 采集血清置于 EP 管中, 用半自动生化分析仪检测血清 TG、TC、HDL-C、LDL-C 的含量变化。

2.4.2 肝组织病理学观察

肝组织常规脱水, 石蜡包埋, 连续切片, HE 染色, 光镜下观察肝组织的形态学变化。

2.4.3 免疫组化法观察结肠组织 AQP3 的表达

将结肠组织切片, 常规脱水, 磷酸缓冲液(0.01 M PBS pH 7.4)清洗, 3% H₂O₂ 液室温下孵育 20 min, PBS 液清洗, 0.01 M 枸橼酸缓冲液(pH 6.0)微波炉内抗原修复 30 min(92 °C), 室温下冷却, PBS 液清洗, 滴加山羊血清工作液封闭, 37 °C 温箱湿盒内孵育 30 min, 吸去多余血清, 滴加兔抗鼠的 AQP3 抗体, 4 °C 冰箱孵育过夜, PBS 液清洗, 滴加二抗工作液, 孵育 30 min, PBS 液清洗, 滴加三抗工作液(SP 法), 孵育 30 min, PBS 液清洗, DAB 显色, 光镜下监视, PBS 充分冲洗, 终止显色。对组织切片拍照后采用 HPIAS-1000 高清晰度彩色病理图象分析系统, 在 100 × 视野下每张切片取 8 个视野, 测定平均光密度值作半定量分析。

2.4.4 RT-PCR 法检测结肠组织 AQP3mRNA 的表达

取-70℃冻存的结肠组织 100 mg,加入到 1 mL Trizol 于冰上匀浆,提取总 RNA,紫外分光光度计测量其浓度和纯度,电泳检测其完整性。调整 RNA 浓度为 1 μg/μL,将其反转录成 cDNA。AQP3 上游引物:5'-CACCCATAAAAAGCCCCCTT-3';下游引物:5'-AAACTTGGTCCCTTGCCCTT-3',扩增产物片段长度为 304 bp。 β -actin 引物序列为:上游:5'-CCA AGCCA ACCGCGAGA AGATGA C-3',下游:5'-AGGGTACATGGTGGT GCGCCAGAC-3',扩增产物片段长度为 587 bp。反应体系为:含 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、上样染料、稳定剂、优化剂、反应缓冲液、逆转录反应产物、上下游引物等。PCR 扩增反应条件为:变性 94℃,30 s,退火 56℃,30 s,延伸 72℃,30 s,30 个循环,最后延伸 10 min。半定量分析:取每个标本的扩增产物 6 μL 于 1% 的含 GV 核酸染料的琼脂糖凝胶电泳,以 DNA Marker(DL2000)作为标准分子量标记,电泳后摄片,并进行光密度扫描,以 β -actin 校正作相对量分析,数值以两者之积分吸光度的比值表示。

2.4.5 Western Blot 法检测结肠组织 AQP3 蛋白表达

取大鼠结肠组织约 100 mg,液氮研磨,然后转移到 900 μL 的含有 1 mmol/L PMSF 的 RIPA 中性裂解液当中,混匀,超声裂解,配平后 4℃,12000

rpm 离心 15 min,收集上清,进行蛋白含量的测定。蛋白煮沸变性以后,经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,然后转移到 PVDF 膜上,5% 的脱脂奶粉封闭,一抗 4℃ 孵育过夜,PBST 洗膜 3 次,二抗室温孵育 1.5 h,PBST 洗膜 3 次,暗室曝光,X 胶片上显影,用 Tanon Gis 软件扫描各条带的吸光度值并分析结果。

2.5 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件进行处理,数据用均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用单因素方差分析,两两比较用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 泽泻汤加味方对高脂血症大鼠血脂的影响

与正常组相比,模型组大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 的含量均明显升高 ($P < 0.01$),HDL-C 含量明显降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。药物干预后,各用药组 TG、TC、LDL-C 的含量均较模型组降低,HDL-C 含量均升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);与对照组相比,高剂量组血脂各项指标无明显变化 ($P > 0.05$),中、低剂量组 TG、TC、LDL-C 的含量升高,HDL-C 含量降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);泽泻汤加味方各剂量组之间比较,高剂量组 TG、TC、LDL-C 的含量低于中、低剂量组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),HDL-C 的含量高于中、低剂量组 ($P < 0.05$);与低剂量组相比,中剂量组 TC 含量降低 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠血清 TG、TC、HDL-C、LDL-C 含量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 The content of TG,TC,LDL-C and HDL-C in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
空白组 Normal	-	0.860 \pm 0.091 ^{△△}	0.994 \pm 0.132 ^{△△}	0.641 \pm 0.083 ^{△△}	1.032 \pm 0.117 ^{△△}
模型组 Model	-	2.183 \pm 0.204	2.013 \pm 0.250	1.267 \pm 0.087	0.731 \pm 0.085
对照组 Control	1.89	1.153 \pm 0.144 ^{△△}	1.154 \pm 0.145 ^{△△}	0.775 \pm 0.083 ^{△△}	0.955 \pm 0.100 ^{△△}
低剂量组 Low-dose	7390	1.505 \pm 0.145 ^{△△▲▲*}	1.566 \pm 0.140 ^{△△▲▲*□}	0.964 \pm 0.088 ^{△△▲▲**}	0.749 \pm 0.071 ^{△▲▲*}
中剂量组 Middle-dose	14780	1.428 \pm 0.131 ^{△△▲▲**}	1.358 \pm 0.169 ^{△△▲▲*}	0.900 \pm 0.099 ^{△△▲▲**}	0.757 \pm 0.072 ^{△▲▲*}
高剂量组 High-dose	29560	1.205 \pm 0.139 ^{△△}	1.164 \pm 0.197 ^{△△}	0.787 \pm 0.057 ^{△△}	0.904 \pm 0.115 ^{△△}

注:与模型组比较:△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;与对照组比较:▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与高剂量组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与中剂量组比较:□ $P < 0.05$,□□ $P < 0.01$ 。

Note:Vs Model Group:△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$;Vs Control Group:▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;Vs High-dose Group:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;Vs Middle-dose Group:□ $P < 0.05$,□□ $P < 0.01$ 。

3.2 泽泻汤加味方对高脂血症大鼠肝组织病理形态学的影响

正常组大鼠肝细胞为排列整齐的规则六边形,

围绕中央静脉呈放射状分布,肝血窦结构正常,无脂肪滴和炎性浸润。模型组大鼠肝细胞排列混乱,且出现大量脂肪滴,细胞核位置被挤压偏离,肝血窦充

血水肿。对照组肝细胞结构清晰,脂肪滴明显减少,肝血窦充血水肿减轻,但存在细胞坏死及炎性浸润。泽泻汤加味方高、中、低剂量组较模型组结构排列清

晰,脂肪滴也不同程度减少,肝血窦形态趋于正常,尤以高剂量组改善显著。见图1。

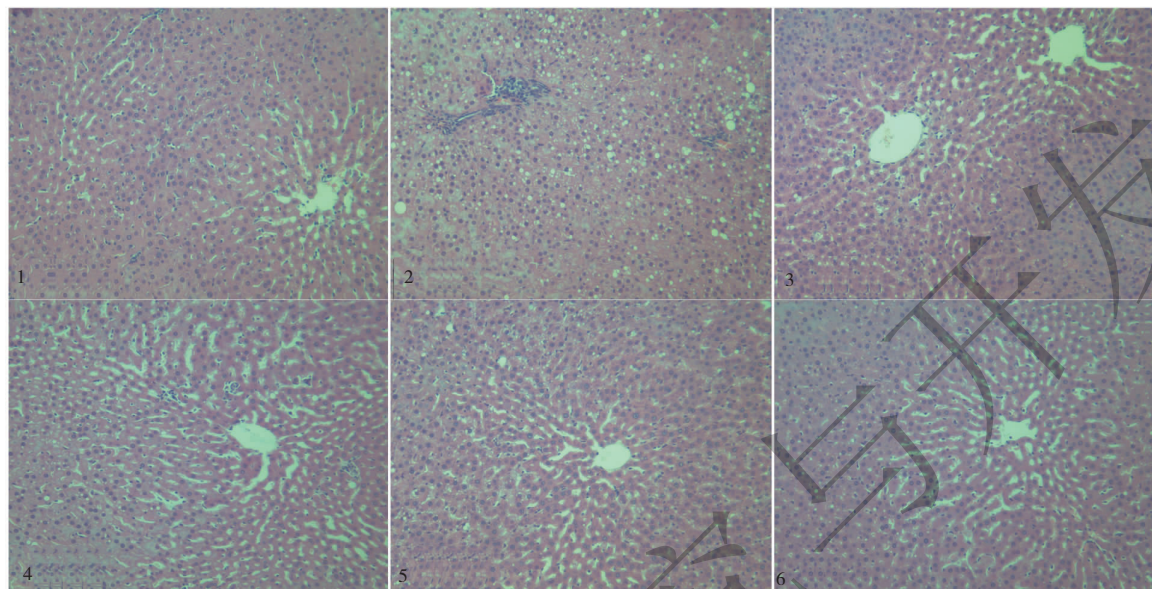


图1 空白组(1)、模型组(2)、对照组(3)、低剂量组(4)、中剂量组(5)及高剂量组(6)大鼠肝组织的形态变化($\times 200$)

Fig. 1 Morphological changes of liver tissue in rats from normal group (1), model group (2), control group (3), low-dose group (4), middle-dose group (5) and high-dose group (6) ($\times 200$)

3.3 泽泻汤加味方对高脂血症大鼠结肠组织中 AQP3 mRNA 表达的影响

模型组大鼠结肠中 AQP3 mRNA 的表达较正常组升高($P < 0.01$);各用药组 AQP3 mRNA 的表达均低于模型组($P < 0.01$);其中,高、中剂量组低于对照组($P < 0.01$),而低剂量组与对照组比较无统计学意义($P > 0.05$);高剂量组低于中、低剂量组($P < 0.01$),中剂量组低于低剂量组($P < 0.01$),见表2,图2。

3.4 泽泻汤加味方对高脂血症大鼠结肠组织中 AQP3 蛋白表达的影响

3.4.1 运用免疫组化方法检测结肠组织中 AQP3 的表达情况

正常组阳性细胞表达相对较少,着色较浅,模型组大鼠结肠上皮细胞的细胞核、细胞浆及肠腺上皮细胞阳性表达相对较多,着色较深,结缔组织有少量阳性表达。对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组阳性细胞的表达及着色程度依次降低,半定量分析

表2 各组大鼠结肠组织中 AQP3 及 AQP3 mRNA 表达变化的比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 The expression of AQP3 and AQP3 mRNA in colon tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	平均光密度数值 Average optical density	AQP3mRNA/ β -actin	AQP3/ β -actin
空白组 Normal	-	0.133 \pm 0.015 $\Delta\Delta$	0.241 \pm 0.015 $\Delta\Delta$	0.326 \pm 0.042 $\Delta\Delta$
模型组 Model	-	0.477 \pm 0.023	0.485 \pm 0.025	0.944 \pm 0.052
对照组 Control	1.89	0.374 \pm 0.025 $\Delta\Delta$	0.453 \pm 0.018 $\Delta\Delta$	0.798 \pm 0.076 $\Delta\Delta$
低剂量组 Low-dose	7390	0.263 \pm 0.025 $\Delta\Delta\blacktriangle\blacktriangle$ * \square	0.442 \pm 0.013 $\Delta\Delta$ * * $\square\square$	0.782 \pm 0.054 $\Delta\Delta$ * * $\square\square$
中剂量组 Middle-dose	14780	0.233 \pm 0.025 $\Delta\Delta\blacktriangle\blacktriangle$ * *	0.387 \pm 0.009 $\Delta\Delta\blacktriangle\blacktriangle$ * *	0.627 \pm 0.100 $\Delta\Delta\blacktriangle\blacktriangle$ * *
高剂量组 High-dose	29560	0.168 \pm 0.024 $\Delta\Delta\blacktriangle\blacktriangle$	0.307 \pm 0.011 $\Delta\Delta\blacktriangle\blacktriangle$	0.502 \pm 0.085 $\Delta\Delta\blacktriangle\blacktriangle$

注:与模型组比较: $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与对照组比较: $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$;与高剂量组比较: $* P < 0.05$, $** P < 0.01$;与中剂量组比较: $\square P < 0.05$, $\square\square P < 0.01$ 。

Note: Vs Model Group: $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; Vs Control Group: $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$; Vs High-dose Group: $* P < 0.05$, $** P < 0.01$; Vs Middle-dose Group: $\square P < 0.05$, $\square\square P < 0.01$.

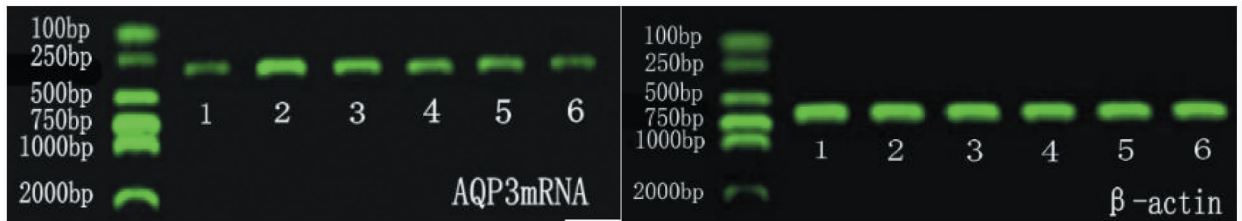


图2 空白组(1)、模型组(2)、对照组(3)、低剂量组(4)、中剂量组(5)及高剂量组(6)大鼠结肠组织中 AQP3mRNA 的表达
Fig. 2 Expression of AQP3mRNA among normal group (1), model group (2), control group (3), low-dose group (4), middle-dose group (5) and high-dose group (6)

提示:模型组大鼠结肠中 AQP3 的表达较正常组升高($P < 0.01$);各用药组 AQP3 的表达均低于模型组($P < 0.01$);其中,高、中、低剂量组低于对照组(P

< 0.01);高剂量组低于中、低剂量组($P < 0.01$);中剂量组低于低剂量组($P < 0.05$),见表2,图3。

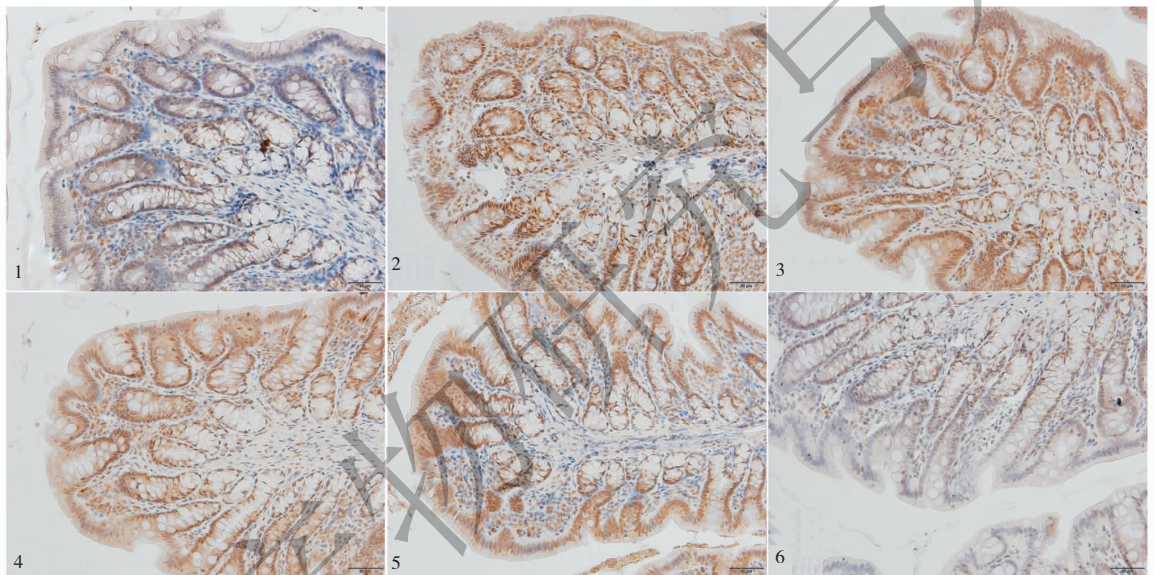


图3 空白组(1)、模型组(2)、对照组(3)、低剂量组(4)、中剂量组(5)及高剂量组(6)大鼠结肠组织中 AQP3 蛋白的表达 (SP, $\times 400$)

Fig. 3 Expression of AQP3 among normal group (1), model group (2), control group (3), low-dose group (4), middle-dose group (5) and high-dose group (6) (SP, $\times 400$)

3.4.2 运用 Western Blot 方法检测结肠组织中 AQP3 的表达情况

结果显示,模型组大鼠结肠中 AQP3 的表达较正常组升高($P < 0.01$);各用药组 AQP3 的表达均低于模型组($P < 0.01$);其中,高、中剂量组低于对照组($P < 0.01$),而低剂量组与对照组相比无统计学意义($P > 0.05$);高剂量组低于中、低剂量组($P < 0.01$),且中剂量组低于低剂量组($P < 0.01$),见表2,图4。

4 讨论

中医典籍中无“高脂血症”病名,据其临床表

现、体征及舌脉等特点,可归属于“痰浊”、“血瘀”等范畴,临床多分为肝气郁证、肝郁脾虚证、肝肾阴虚证、肾阳虚证、痰瘀内阻证、阴虚阳亢证等6种证型予以辨治^[5]。课题组认为本病的发生多是由于饮食饥饱失节、偏嗜醇甘厚味、久坐怠惰懒动、情志抑郁失畅等,致使脾运功能下降,升清降浊失职,水湿停聚成痰,痰浊停积生成“脂膏”,注入血液、壅塞血脉而诱发。痰浊是导致血脂异常的主要生物物质基础,脾失健运,痰浊内生为其主要病机,健脾祛湿消痰为其有效治法。有学者对脾虚状态下高脂血症大鼠的胆固醇代谢进行研究发现,因脾虚运化失常导



图4 空白组(1)、模型组(2)、对照组(3)、低剂量组(4)、中剂量组(5)及高剂量组(6)大鼠结肠组织中 AQP3 蛋白的表达
Fig. 4 Expression of AQP3 among normal group (1), model group (2), control group (3), low-dose group (4), middle-dose group (5) and high-dose group (6)

致的高脂血症其胆固醇水平明显升高,且肝脏出现脂质沉积,揭示了“脾主运化”对脂质代谢的调控作用^[7]。泽泻汤加味方是在《金匱要略》泽泻汤的基础上加入荷叶而成,方中泽泻利水道、祛水湿、消痰浊、降血脂,白术补气健脾、燥湿利水,既健脾益气以助运化,又祛已成之痰湿,更加以荷叶升清降浊,祛湿利尿,三药同用,驱邪扶正,标本兼顾,共奏消痰祛浊,健运脾胃之功,临证以此为基础方剂随证加味,获效较佳。

水通道蛋白(AQPs)到目前为止共发现 13 个亚型,AQP0~12 存在于人体的多个组织器官并参与机体的水液代谢。其中 AQP3、AQP4 在结肠组织的表达较多^[8,9],结肠是肠道水分重吸收的重要场所,结肠的上皮细胞排列致密,对细胞旁路这一吸收途径有所限制,因此跨细胞膜转运就成了结肠对水分吸收的主要途径。而水通道蛋白正是介导细胞膜的跨膜水转运的一类蛋白,能快速地转运人体的水分子及小分子通过细胞膜。虽然目前基于 AQPs 途径防治高脂血症的报道较少,但有关通过调控结肠中 AQPs 的表达,调节水液代谢防治消化系统疾病的报道较多,如康乐等研究发现,腹泻模型大鼠粪便含水量随着结肠 AQP3 表达量的不断减少而增加,复方儿茶止泻霜可能是通过上调 AQP3 的表达,增加水分从肠壁到肠腔的转运,减少肠内水量而具有治疗结肠炎的作用^[10];牛亭惠和姬甜丽等实验观察发现慢传输型便秘大鼠结肠黏膜上皮细胞 AQP3 表达增加,认为便秘是由于结肠对水重吸收增加所导致,通便颗粒能够改善便秘症状是因能下调 AQP3 的表达,减少结肠对水分的吸收^[11,12]。又如李姿慧等发现脾虚湿困性溃疡性结肠炎大鼠结肠组织 AQP3 表达减少,具有健脾化湿功效的参苓白术散可上调其表达以达到治疗目的^[13]。

高脂血症的病机关键是痰湿的生成,机体水液代谢固然需要多个脏腑的协调配合来完成,然大肠对水液的调节功能不可忽视。中医自古即有“大肠主津”之说,是指大肠传导失司、结肠重吸收水分的

功能失调会导致水液代谢的失常,调整结肠的吸收功能可改善水液代谢的紊乱,有助于痰湿等病理产物的消除。因此通过观察实验大鼠结肠组织 AQPs 的表达,探讨中药及其复方防治高脂血症的作用机制具有传统中医理论和现代研究的基础,有望成为一个新的研究靶点。实验结果表明,模型组大鼠 TG、TC、LDL-C 升高,HDL-C 降低,提示高脂血症模型成功。在血脂存在异常的同时,结肠组织中 AQP3 基因、蛋白的表达增强,证实了血脂异常与结肠组织 AQP3 的表达具有相关性,正是因为 AQP3 表达上调抑制了水分从肠壁到肠腔的转运,致使水湿停聚,酿生痰浊,导致了高脂血症的发生。经泽泻汤加味方治疗后,模型组大鼠血脂降低,肝脏的脂肪变性减轻,结肠组织 AQP3 基因、蛋白的表达也明显减弱,说明结肠组织因其重吸收过度导致的水液停聚得到改善,防止了病理产物的滋生。推测泽泻汤加味方是通过调控 AQP3 的表达,以调节水液代谢,阻止痰湿的生成,祛除致病因素,进而达到治疗高脂血症的目的,此可能是该方治疗高脂血症的分子机制之一,但其深层次的信号传导途径和作用机理尚有待进一步研究探讨。

参考文献

- 1 Sun F(孙芳),Shang WB(尚文斌). New research progress about treating hyperlipidemia in traditional china medical ways. *Inf Tradit Chin Med*(中医药信息),2011,28:120-123.
- 2 Zhao RS(赵润生),Xing YM(邢玉敏),Zhang YZ(张永志),et al. Clinical observation on 55 cases of hyperlipemia due to turbid phlegm stagnation treated with modified Zexie Decoction. *J Gansu Univ Chin Med*(甘肃中医学院学报),2015,32(4):42-44.
- 3 Zhang XX(张昕贤),Wu F(吴锋),Lin RY(林日阳),et al. Changes of lung, spleen and kidney aquaporin-1 in rats with Kidney Yang Deficiency;the "water metabolism theory" in traditional Chinese medicine. *J Southern Med Univ*(南方医科大学学报),2012,10:1507-1509.