

## 牛磺酸对高脂膳食大鼠肝脏脂肪合成的影响

马于巽<sup>1†</sup>, 宋琪<sup>1†</sup>, 欧瞳<sup>1</sup>, 张静<sup>1,2</sup>,  
郭藏<sup>1</sup>, 耿雪莹<sup>1</sup>, 米生权<sup>1,2</sup>, 张艳贞<sup>1,2</sup>, 郭俊霞<sup>1,2</sup>, 陈文<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>北京联合大学生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 北京 100191;

<sup>2</sup>北京联合大学生物化学工程学院食品科学系, 北京 100023

**摘要:**为探讨牛磺酸对高脂膳食大鼠肝脏脂肪合成的影响,将 55 只雄性 SD 大鼠分为常规饲料组及相应的低/高剂量牛磺酸组、高脂饲料组及相应的低/高剂量牛磺酸组共 6 组。饲养 8 周后,高剂量牛磺酸显著降低了高脂膳食大鼠的体重,附睾脂肪指数,血清甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、转氨酶 ALT/AST、炎症因子 IL-4 和 TNF- $\alpha$ ,以及肝脏 TG 与 TC;显著降低了大鼠肝脏 SREBP-1c 的 mRNA 与蛋白表达,减少了 SREBP-1c 及其相关因子 AceCSI、FAS、ACC、p-IRS1-Ser302、p-mTOR-Ser2448 蛋白表达量,提高了 p-ACC、p-PI3K-Tyr607、p-Akt-Ser473、p-Akt-Thr308 表达。结果提示牛磺酸可改善高脂膳食对 IRS1/PI3K/Akt 通路的抑制,但并非通过该通路抑制 SREBP-1c 表达而干预大鼠肝脏脂肪合成。

**关键词:**牛磺酸;甘油三酯;固醇调节元件结合蛋白 1c

中图分类号:R963

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022) Suppl-0084-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.S.013

## Effects of taurine on liver fat synthesis in rats with high-fat diet

MA Yu-xun<sup>1†</sup>, SONG Qi<sup>1†</sup>, OU Tong<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>1,2</sup>, GUO Cang<sup>1</sup>,  
GENG Xue-ying<sup>1</sup>, MI Sheng-quan<sup>1,2</sup>, ZHANG Yan-zhen<sup>1,2</sup>, GUO Jun-xia<sup>1,2</sup>, CHEN Wen<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Foods, Beijing Union University, Beijing 100191, China;

<sup>2</sup>Food Science Department, College of Biochemical Engineering, Beijing Union University, Beijing 100023, China

**Abstract:** In order to discuss the effects of taurine on liver fat synthesis in high-fat diet rats, 55 male SD rats were divided into 6 groups, regular diet control group and corresponding low/high-dose taurine groups, high-fat diet model group and corresponding low/high dose taurine groups. After 8 weeks feeding, high-dose taurine significantly reduced the body weight, epididymal fat index, serum triglycerides (TG), cholesterol (TC), ALT, AST, IL-4, TNF- $\alpha$ , and liver TG and TC of high-fat diet rats; and significantly reduced the mRNA and protein levels of SREBP-1c in high-fat diet rats liver, and also reduced the protein expression of SREBP-1c, AceCSI, FAS, ACC, p-IRS1-Ser302, p-mTOR-Ser2448, and increased the protein expression of p-ACC, p-PI3K-Tyr607, p-Akt-Ser473, p-Akt-Thr308. These results suggest that taurine can improve the inhibition of IRS1/PI3K/Akt pathway induced by high-fat diet, but its inhibition on SREBP-1c and subsequent intervention on rat liver fat synthesis were not regulated by this pathway.

**Key words:** taurine; triglyceride; SREBP-1c

脂肪肝是常见慢性疾,常与肥胖和高脂血症相伴发生。我国成人脂肪肝患病率为 12.5% ~ 35.4%,及时干预可阻止其进一步发展为肝纤维化、肝硬化甚至肝癌<sup>[1,2]</sup>。因此,研究天然活性成分对脂肪肝的干预及其作用机制具有重要意义。牛磺酸

富含于鱼贝类等海产品中,是小分子含硫氨基酸,以游离形式存在于哺乳动物的肝脏、脑、视网膜等组织器官,具有多种生理功能<sup>[3]</sup>。动物实验表明牛磺酸可减少高脂膳食实验动物的体脂肪、降低血清甘油三酯和胆固醇、改善脂肪肝<sup>[4,5]</sup>。Yanagita 等<sup>[6]</sup>利用 HepG2 细胞实验发现牛磺酸了抑制<sup>14</sup>C 标记的油酸合成甘油三酯。我们前期的研究显示牛磺酸通过调控固醇调节元件结合蛋白-1c (sterol-regulatory ele-

收稿日期:2021-02-05 接受日期:2021-07-01

基金项目:北京联合大学科研项目(XP202005)

† 共同第一作者

\* 通信作者 E-mail:wlichenwen@buu.edu.cn

ment binding protein-1c, SREBP-1c) 而抑制高脂 HepG2 细胞脂肪酸的合成<sup>[7]</sup>。SREBP-1c 主要表达在肝脏和脂肪细胞中,是脂肪酸和甘油三酯合成的关键调控因子,调控其下游靶基因乙酰辅酶 A 合成酶(acetyl-CoA synthetase, AceCS)、乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)等脂肪酸合成相关酶,也受多条信号通路的调控,胰岛素信号通路是主要途径之一<sup>[8,9]</sup>。胰岛素信号通路始于胰岛素受体底物 1(insulin receptor substrate 1, IRS-1) 和/或 IRS-2 的酪氨酸磷酸化。IRS 磷酸化后活化下游磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K) 和丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(蛋白激酶 B 或称 Akt)。雷帕霉素靶蛋白 C1(mammalian target of rapamycin C1, mTORC1) 是 PI3K/Akt 下游的一个效应蛋白,其磷酸化后被激活,可增加 SREBP-1c 基因转录<sup>[10]</sup>。本研究主要基于 SREBP-1c 通路探讨牛磺酸对高脂膳食大鼠肝脏脂肪合成的干预作用,及其对 IRS-1/PI3K/Akt/mTORC1 通路的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

实验动物:SD 雄性大鼠(许可证号:SCXK(京)2014-0004),体重 100 ~ 120 g,北京维通利华实验动物技术有限公司。

饲料:北京华阜康生物科技股份有限公司。高脂饲料配方为:78.8% 基础料,1% 胆固醇,10% 蛋黄粉,10% 猪油,0.2% 胆盐。

牛磺酸:潜江永安药业股份有限公司。

试剂:甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、谷丙转氨酶、谷草转氨酶测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-4、IL-6 测定试剂盒(依科赛生物科技有限公司);TritonX-100、PMSF、RAPI 裂解液、引物、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限公司);氯仿、甲醇、异丙醇(北京化工厂);SREBP-1c 一抗(兔抗, Affinity 公司);FAS、AceCS1、ACSL1、ACC、p-ACC(Ser79)、IRS1、p-IRS1(Ser302)、p-IRS1(Ser307)、PI3K、Akt、p-Akt(Thr308)、p-Akt(Ser473)、mTOR、p-mTOR(Ser2448)、GAPDH 等一抗(兔抗)、二抗(抗兔 IgG-HPR)(CST(Cell Signaling Technology)公司);p-PI3K(Tyr607, Abcam 公司);TRIzol 试剂盒、反转录试剂盒(Invitrogen 公司);dNTPs、EC 显影试

剂盒(GenView 公司)。

### 1.2 仪器与设备

酶标仪(Thermo Fisher 公司);电泳仪、转膜仪(美国 Bio-Rad 公司);荧光定量 PCR 仪(ABI 公司);凝胶成像系统(北京 Thmorgan 生物科技有限公司);中通量组织研磨仪(北京鼎昊源科技有限公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 实验动物分组与饲养

55 只雄性 SPF 级 SD 大鼠,初始体重  $120 \pm 5$  g,于 SPF 级动物房单笼饲养,遵守实验动物管理规范要求。实验环境为室温  $22 \pm 2$  °C,相对湿度  $55\% \pm 5\%$ ,明暗交替周期 12 h。适应性饲养 5 天后,根据血清 TC 和体重随机分为 6 组:常规饲料对照组(N)、常规饲料+牛磺酸低剂量组(N+T1)、常规饲料+牛磺酸高剂量组(N+T2)、高脂饲料模型组(H)、高脂饲料+低剂量牛磺酸组(H+T1)、高脂饲料+高剂量牛磺酸组(H+T2)。各组大鼠自由摄取相应饲料,牛磺酸组每日灌胃牛磺酸,以 70 mg/kg 和 350 mg/kg 作为低剂量和高剂量。每周称两次体重并统计摄食量,实验第 7 周采血测定血清 TG 和 TC,确认造模成功,第 8 周后结束实验进行解剖。

#### 1.3.2 样品收集

实验结束前断食 12 h,10% 水合氯醛皮下注射麻醉(4 mL/kg·BW),股动脉采血处死。全血在室温下静置 30 min,4 °C、3 500 r/min 离心 20 min 后取血清,-80 °C 保存。部分肝组织用生理盐水洗净后以 10% 甲醛溶液固定;其余肝脏组织分块迅速-80 °C 保存。取附睾脂肪、心脏、脾、肾脏称重并记录。

#### 1.3.3 指标检测

##### 1.3.3.1 大鼠体重、摄食量、附睾脂肪重量测定

每周两次固定时间称量大鼠体重,同时统计饲料供给量和剩余量,计算大鼠每日摄食量。解剖时取附睾脂肪组织,称重并记录,计算附睾脂肪占体重百分比(附睾脂肪指数)。

大鼠每日摄食量(g/d) = (给量-剩余量)/天数

附睾脂肪体重比 = 附睾脂肪重量/体重  $\times 100\%$

##### 1.3.3.2 血清检测

按试剂盒说明书检测血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C、SOD、MDA、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、IL-2、IL-4、IL-6、TNF- $\alpha$  的含量。

##### 1.3.3.3 肝组织切片染色

肝组织石蜡切片进行常规 HE 染色、冰冻切片进行常规油红 O 染色后,显微镜观察组织结构。

#### 1.3.3.4 肝脏脂质测定

称取大鼠肝组织 0.1 g,按质量(g)体积(mL)比 1:9 加入氯仿甲醇(V/V,2:1),用组织研磨仪匀浆,参数为 2 000 r/min,60 s/次,3 次循环。3 000 r/min 离心 10 min,取上清液用氮吹仪吹干后溶解于 3 mL 含 10% TritonX-100 的异丙醇,取 10  $\mu$ L 按照试剂盒说明书测定 TC 和 TG 浓度。

#### 1.3.3.5 肝脏 TG 合成相关因子 mRNA 的测定

取冻存的肝脏组织用 Trizol 试剂盒提取总 RNA,电泳检测 RNA 完整性后,按 RT-PCR 试剂盒操作进行逆转录得到 cDNA。以 GAPDH 为内参,经 PCR 反应扩增目的基因,RT-PCR 实验条件为 94  $^{\circ}$ C 2 min,35 个循环:94  $^{\circ}$ C 30 s;60  $^{\circ}$ C 30 s;72  $^{\circ}$ C 30 s;72  $^{\circ}$ C 10 min。扩增后读取 CT 值,计算  $2^{-\Delta\Delta CT}$  分析目的基因的表达情况。目的基因引物信息如表 1 所示。

表 1 PCR 引物序列  
Table 1 PCR primer sequence

目的基因 Target gene	引物序列 Primer sequence	产物长度 Product size (bp)
GAPDH	F:ACAGCAACAGGGTGGTGGAC R:TTGAGGGTGCAGCGAACTT	252
SREBP-1c	F:CTACAGGCTGAGAAAGGATG R:CAGGTTAGAAGCAACAAGATG	121
FAS	F:CCGCCGACCAAGTATAAACC R:CACAGACACCTTCCCATCA	137
ACC	F:TGGCCTTTCACATGAGGTCC R:TAAGACCACCGCCGATAGA	214
AceCSI	F:GGCCATTCCTTCGGTACAA R:GCTCATTGCCCTGCCAGTAA	160
ACSL1	F:GTTCCGCTCTATGACACG R:CTGGAGGCTTGGTTTCG	274
IRS-1	F:TTGACGCCAAAGAATAACCTGG R:AAGTGTCTGAAGACTCGCTGTG	166
IRS-2	F:ACTGCTGGCTCCTCAATGTC R:AAGGTCTCTGAAGTGTGGCG	287
PI3K	F:GTAGGCCCGAGTAAGCTGAA R:CCGTAGGTGAGACCCCAAGT	206
AKT	F:CAAGATGACAGCATGGAGTGTG R:CCAGCACATCCGAGAAACAAA	189

#### 1.3.3.6 肝脏 TG 合成相关因子蛋白表达的测定

称取肝组织,按质量体积比 1:9 加入 PMSF 终浓度为 1 mmol/L 的 RIPA 裂解液,研磨后在冰上裂解 15 min。4  $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min 后取上清,以 BCA 试剂盒测样品的蛋白浓度。用 5  $\times$  SDS 上样缓冲液使蛋白变性。每孔上样 30  $\mu$ g 蛋白进行电泳,转至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,加入不同目的蛋白的一抗和内参 GAPDH 抗体 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 洗三次后加入二抗,常温孵育 2 h, TBST 洗三次后用 ECL 试剂盒显影。用凝胶图像分析系统进行目的蛋白及内参灰度值分析。

## 1.4 数据处理

实验数据以平均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,用 SPSS 20.0 统计软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)。 $P < 0.05$  具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 牛磺酸对大鼠摄食量、体重和附睾脂肪指数的影响

图 1A 中,常规饲料各组间、高脂饲料各组间摄食量无明显差异。因高脂饲料热量较高,三周后摄取高脂饲料的模型组(H 组)摄食量少于摄取常规饲料的对照组(N 组)。图 1B 显示,2 周后 H 组大

鼠体重明显大于 N 组 ( $P < 0.05$ ), 4 周后高剂量牛磺酸组 (H + T2 组) 大鼠体重显著低于 H 组 ( $P < 0.05$ )。实验结束时 (图 1C ~ 1E), H 组的体重增量、附睾脂肪重量、附睾脂肪指数显著高于 N 组 ( $P$

$< 0.05$ ), H + T2 组的则都明显低于 H 组 ( $P < 0.05$ )。提示牛磺酸对大鼠摄食量无影响、高剂量牛磺酸能降低肥胖大鼠体重和附睾脂肪指数, 改善高脂膳食诱导的肥胖。

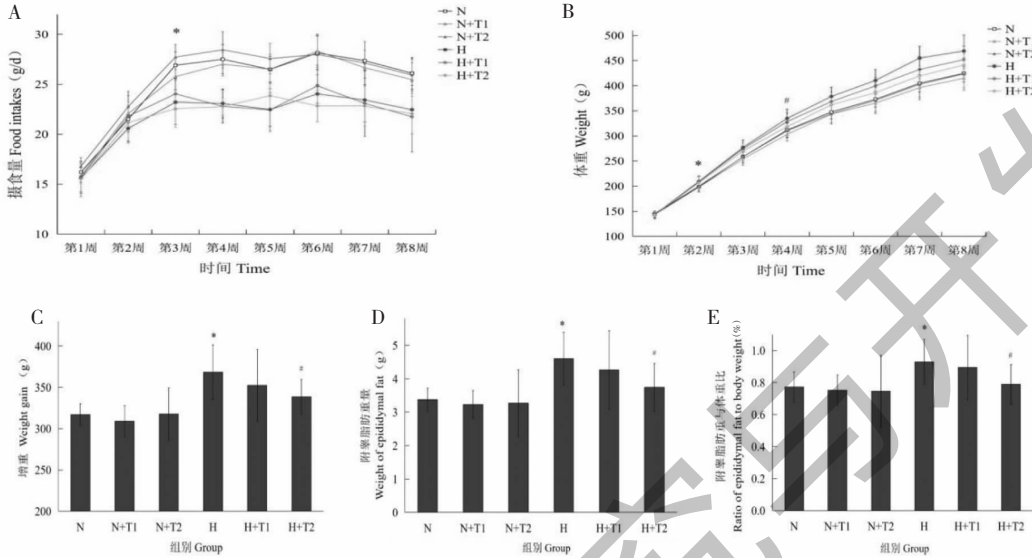


图 1 牛磺酸对大鼠摄食量、体重和附睾脂肪指数的影响

Fig. 1 Effect of taurine on the food intake, body weight and weight of epididymal fat in rats

注:与 N 组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与 H 组相比, #  $P < 0.05$ 。Note: Compared with N group, \*  $P < 0.05$ ; Compared with H group, #  $P < 0.05$ 。

## 2.2 牛磺酸对大鼠血清转氨酶、炎症因子的影响

图 2 显示, 各组大鼠血清 IL-2、IL-6 无差异, 但血清转氨酶 (ALT、AST)、IL-4、TNF- $\alpha$  水平则是 H 组的高于 N 组 ( $P < 0.05$ )、H + T2 组的低于 H 组 ( $P <$

0.05), 表明摄食高脂饲料使大鼠血清转氨酶、IL-4 和 TNF- $\alpha$  水平升高, 而牛磺酸能逆转这几项指标的增高, 提示牛磺酸可改善脂肪性肝损伤和炎症。

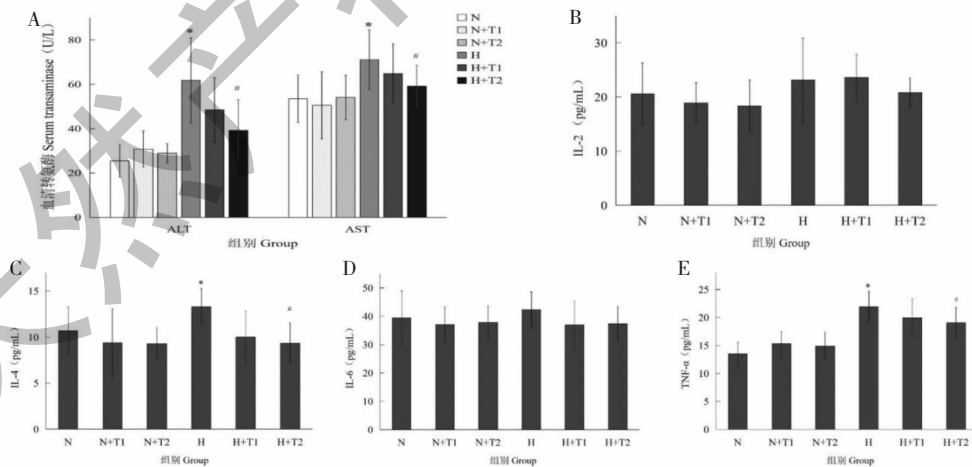


图 2 牛磺酸对大鼠血清转氨酶、炎症因子的影响

Fig. 2 Effect of taurine on serum transaminases and inflammatory factors in rats

## 2.3 牛磺酸对大鼠血清和肝脏脂质的影响

图 3 给出了牛磺酸对大鼠血清和肝脏脂质的影响。与 N 组相比, H 组大鼠血清 TC、LDL-C 升高 ( $P$

$< 0.05$ )、HDL-C 下降 ( $P < 0.05$ ), 与 H 组相比, H + T2 组的血清 TC、LDL-C 显著下降 ( $P < 0.05$ )。血清 TG 方面, N + T2 组比 N 组下降、H + T2 组比 H 组减

少( $P < 0.05$ )。肝脏脂质方面,H组的TG、TC显著高于N组( $P < 0.05$ ),与H组相比H+T1组的TG减少( $P < 0.05$ )、H+T2组的TG、TC均下降( $P <$

0.05)。结果提示牛磺酸能有效降低高脂膳食大鼠的血清TG、TC、LDL-C以及肝脏TG和TC。

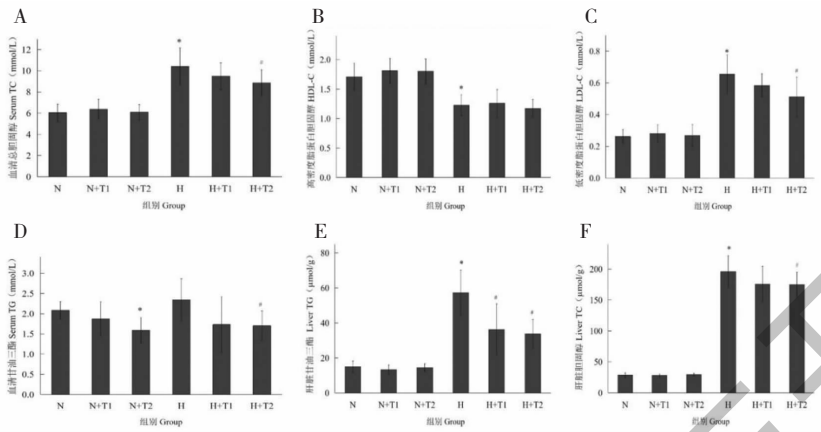


图3 牛磺酸对大鼠血清、肝脏脂质的影响

Fig. 3 Effect of taurine on serum and liver lipids in rats

### 2.4 牛磺酸对大鼠肝组织脂肪变性的影响

图4的HE染色切片显示,N组肝细胞排列有序、形态饱满完整,无明显脂肪空泡;N+T1、N+T2组细胞形态接N组。与N组对比,H组细胞排列松

散混乱、体积膨大,胞内出现较多空泡。与H组对比,H+T1组细胞形态有所改善,大空泡减少,但仍有体积膨大和小空泡现象;H+T2组细胞排列较有序,空泡明显减少。图5是油红O染色后的切片

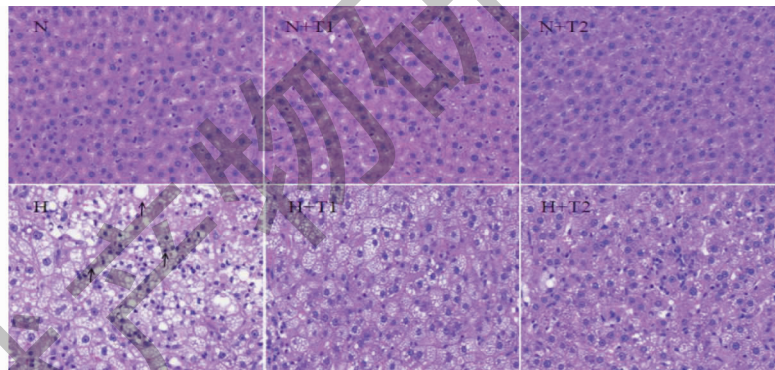


图4 大鼠肝组织 HE 染色切片图(200 ×)

Fig. 4 HE staining of liver tissue slices (200 ×)

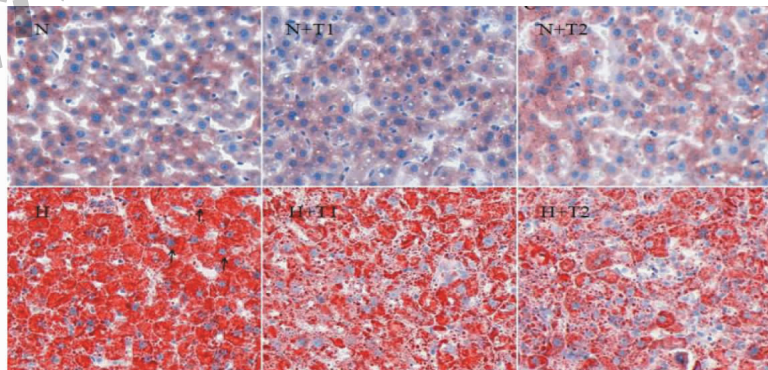


图5 大鼠肝组织油红 O 染色切片图(200 ×)

Fig. 5 Oil red O staining of liver tissue slices (200 ×)



图,脂滴呈红色、细胞核呈蓝色,可见 N + T1、N + T2 组与 N 组无明显差别,但 H 组胞内大量脂滴蓄积,而 H + T1、H + T2 组胞内脂滴蓄积减少。表明高脂膳食使大鼠肝脏脂肪变性,而牛磺酸可有效减少脂肪堆积及其造成的肝损伤。

## 2.5 牛磺酸对大鼠肝脏脂肪合成相关因子 mRNA 的影响

由图 6 可知,H 组的 SREBP-1c、FAS、ACC、长链酰基辅酶 A 合成酶 1 (long chain acyl-CoA synthetases 1, ACSL1) mRNA 水平比 N 组显著增加 ( $P <$

0.05)。与 H 组相比,H + T1、H + T2 组的 SREBP-1c 和 ACSL1 都下降 ( $P < 0.05$ ),且 H + T1 组的 FAS 及 H + T2 组的 ACC 显著降低 ( $P < 0.05$ )。各组间 IRS-1、IRS-2、PI3K、Akt mRNA 表达无明显差别。结果提示,牛磺酸抑制了高脂膳食诱导的 SREBP-1c 及其下游靶基因 FAS、ACC 的表达。ACSL1 虽不是 SREBP-1c 的下游靶基因,但其催化辅酶 A 与脂肪酸结合形成脂酰辅酶 A,脂酰辅酶 A 参与甘油三酯从头合成,ACSL1 过表达可致脂代谢紊乱和甘油三酯沉积<sup>[11]</sup>。

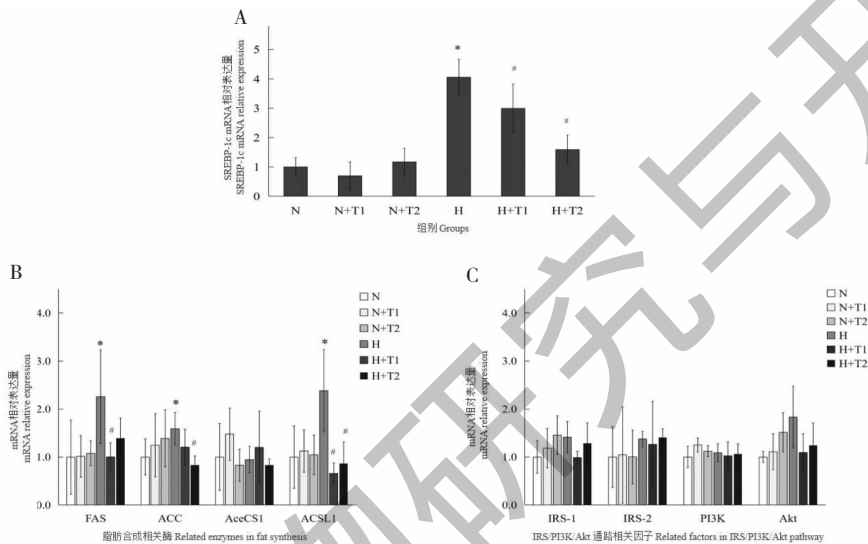


图 6 牛磺酸对大鼠肝脏脂肪合成相关因子 mRNA 的影响

Fig. 6 Effect of taurine on the mRNA expression of factors involved in TG synthesis in rats liver

## 2.6 牛磺酸对大鼠肝脏脂肪合成相关因子蛋白表达的影响

由图 7 可知,H 组的 SREBP-1c、FAS、ACC、AceCS1 蛋白表达水平比 N 组显著增加 ( $P < 0.05$ ),与 H 组相比,H + T1、H + T2 组的 SREBP-1c 和 AceCS1 都下降 ( $P < 0.05$ ),且 H + T2 组的 FAS、ACC、AceCS1 显著降低 ( $P < 0.05$ ),表明牛磺酸可通过降低 SREBP-1c 及其靶基因 FAS、ACC、AceCS1 等脂肪酸合成相关酶的表达而调控脂肪合成。图 7-C 还显示,与 N 相比 H 组 p-ACC 与 ACC 比值下降 ( $P < 0.05$ ),与 H 组相比 H + T2 组 p-ACC 与 ACC 比值上升,提示牛磺酸不仅降低 ACC 的表达,还增加 ACC 磷酸化而抑制其活性,进而抑制脂肪酸合成。

图 8 显示了牛磺酸对大鼠肝脏 SREBP-1c 上游调控因子的影响。与 N 组相比,H 组 p-IRS1-Ser302、p-mTOR-Ser2448 表达增加 ( $P < 0.05$ ),p-

PI3K-Tyr607、p-Akt-Ser473、p-Akt-Thr308 表达下降 ( $P < 0.05$ );对比 H 组,H + T1 和 H + T2 组的 p-PI3K-Tyr607、p-Akt-Ser473 表达都增多 ( $P < 0.05$ ),且 H + T2 组的 p-Akt-Thr308 表达增加、p-IRS1-Ser302 和 p-mTOR-Ser2448 表达减少 ( $P < 0.05$ )。结果表明:高脂膳食使大鼠肝脏 IRS1 丝氨酸磷酸化水平增加、PI3K/Akt 磷酸化水平下降、mTOR 磷酸化水平增加,而牛磺酸降低了高脂膳食大鼠肝脏 IRS1 丝氨酸磷酸化水平,促进 PI3K/Akt 磷酸化,并抑制 mTOR 磷酸化。提示牛磺酸改善了高脂膳食对大鼠肝脏 IRS1/PI3K/Akt 信号通路的干扰,降低了 mTOR 磷酸化水平,进而减少 SREBP-1c 的表达。

## 3 讨论与结论

有研究表明,对高脂膳食诱导的脂肪肝大鼠,牛磺酸可改善脂代谢紊乱、降低肝脏炎症因子水平、减少肝细胞损伤和氧化应激<sup>[12,13]</sup>。高脂胆固醇饮食诱导的脂肪肝变性仓鼠,在摄取 0.7% 牛磺酸饮

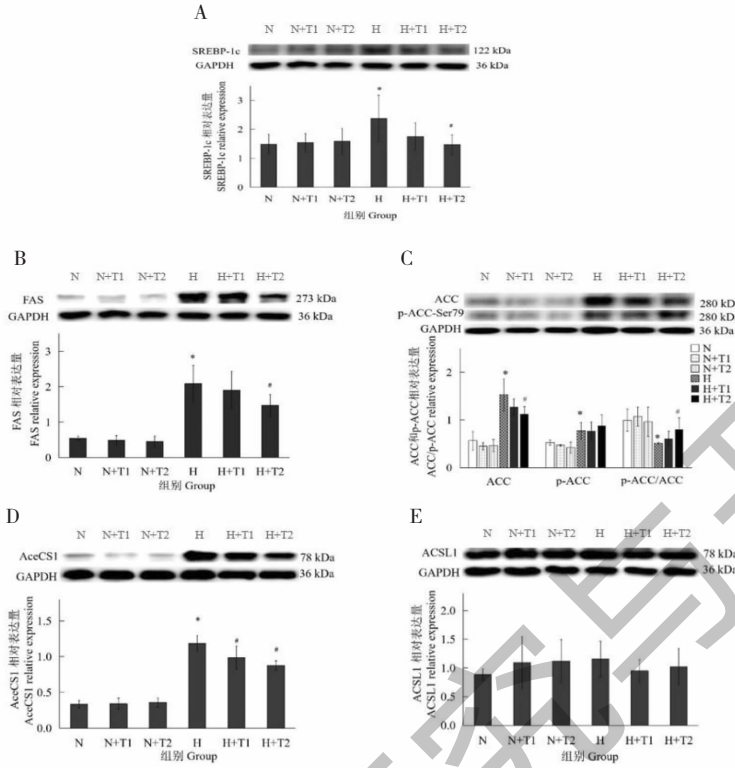


图7 牛磺酸对大鼠肝脏 SREBP-1c 及脂肪酸合成相关酶蛋白表达的影响

Fig. 7 The effect of taurine on the protein expression of SREBP-1c and fatty acid synthases in rats liver

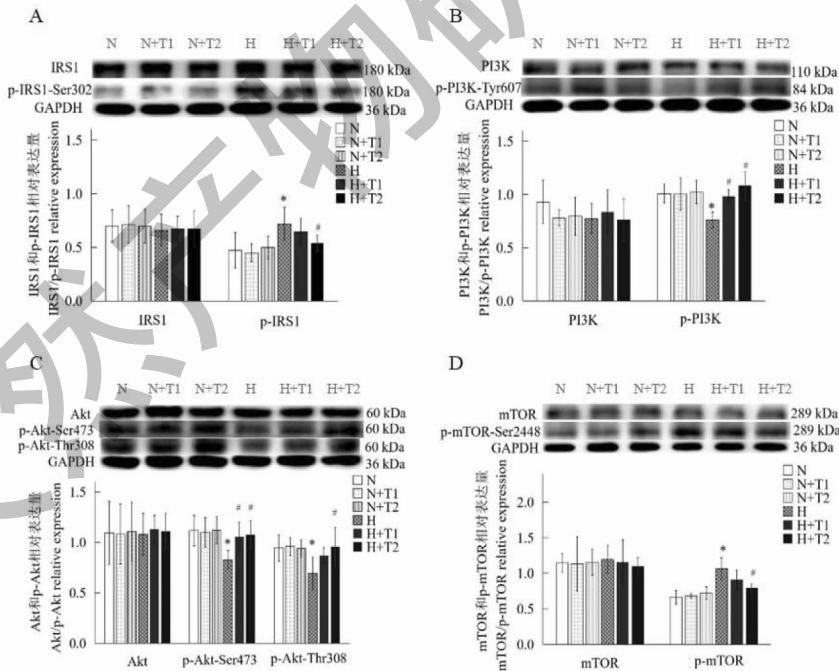


图8 牛磺酸对大鼠肝脏 SREBP-1c 上游调控因子的影响

Fig. 8 Effect of taurine on regulatory factors of SREBP-1c in rats liver

水 4 周后, 体重、血清/肝脏 TG 水平显著降低, 肝脏脂肪变性得到改善<sup>[5]</sup>。本实验中, 牛磺酸(高剂量)

显著降低了高脂膳食大鼠血清 TC、LDL-C、TG 水平, 但也使摄入常规饲料的大鼠血清 TG 下降, 可能

此剂量对于正常膳食状态下的大鼠相对较高。肝脏脂质的结果表明,牛磺酸明显降低了高脂膳食大鼠肝脏 TG、TC 含量,肝组织切片 HE 和油红 O 染色也显示牛磺酸改善了高脂膳食大鼠肝细胞体积膨大的形态、减少了胞内脂滴的蓄积,且高剂量牛磺酸还使血清 ALT、AST、IL-4、TNF- $\alpha$  水平降低,这与其他报道相一致,表明牛磺酸改善了高脂膳食导致的肝脂肪变性和肝损伤。

SREBP-1c 是肝脏脂肪酸和甘油三酯合成的关键调控因子,其过表达与肥胖、高脂血症、代谢综合征的发生发展密切相关<sup>[14,15]</sup>。我们前期的研究显示,牛磺酸对 HepG2 细胞 SREBP-1c 表达无影响,但当用油酸处理细胞以建立高脂模型时,牛磺酸可抑制油酸诱导的 SREBP-1c 表达增加,表明正常状态下牛磺酸不影响细胞 SREBP-1c 表达,仅在高脂状态下抑制 SREBP-1c 表达<sup>[7]</sup>。本实验中,牛磺酸抑制了高脂膳食诱导的大鼠肝脏 SREBP-1c 及其靶基因 FAS、ACC、AceCS1 的表达,且不仅降低 ACC 表达,还增加 ACC 磷酸化而抑制其活性。表明牛磺酸通过降低 SREBP-1c 及其下游靶基因(脂肪酸合成相关酶)的表达而干预肝脏脂肪合成。

IRS/PI3K/Akt 是调控 SREBP-1c 表达的信号通路之一<sup>[9]</sup>。IRS 酪氨酸磷酸化激活后与 PI3K 的调节亚基 p85 结合将胰岛素信号传递给 Akt,使 Akt 磷酸化而被激活<sup>[16,17]</sup>。mTORC1 是 PI3K/Akt 下游的一个效应蛋白,其磷酸化后可促进 SREBP-1c 的 mRNA 表达及翻译后成熟<sup>[18]</sup>。Zhao 等<sup>[19]</sup>用高脂高糖饲料建立大鼠胰岛素抵抗模型,2% 牛磺酸饮水可改善大鼠骨骼肌胰岛素敏感性,提高 IRS1 的 mRNA 和蛋白表达。Wu 等<sup>[20]</sup>研究显示,注射脂肪乳和肝素使大鼠 IRS 丝氨酸磷酸化水平增加,干扰其酪氨酸磷酸化,而牛磺酸可降低 IRS 丝氨酸磷酸化水平而改善胰岛素抵抗。还有研究显示,在 C57BL/6J 小鼠的高脂饮食中补充 5% 牛磺酸 8 周后,小鼠的肥胖和糖耐量得以改善<sup>[21]</sup>。

与 Zhao 等<sup>[19]</sup>的研究结果不同,本研究显示,牛磺酸不影响 IRS1/PI3K/AKT/mTOR 的蛋白和 mRNA 表达,而是通过改变其磷酸化水平发挥作用。牛磺酸降低了高脂膳食诱导的 IRS-1 丝氨酸磷酸化水平,提高了 p-PI3K-Tyr607、p-Akt-Ser473 的表达,促进了 PI3K/Akt 磷酸化,但并未增加 PI3K/Akt 下游 mTOR 的磷酸化水平,而是抑制了 mTOR 的磷酸化,从而减少 SREBP-1c 表达,抑制甘油三酯合成。

这一结果表明,牛磺酸可改善高脂膳食对胰岛素信号通路 IRS1/PI3K/Akt 的干扰,但并非通过胰岛素信号通路调控 SREBP-1c 及其下游脂肪合成相关的靶基因。有研究显示,mTORC1 既受 PI3K/Akt 信号通路的正向调控,也受单磷酸腺苷依赖的蛋白激酶(adenosine phosphate dependent protein kinase, AMPK)的负向调控。当细胞能量水平充足时,ATP 促使 AMPK 失活致 mTOR 磷酸化水平提高,增加 SREBP-1c 表达,促进甘油三酯合成<sup>[22,23]</sup>。因此,牛磺酸可能通过激活 AMPK 而抑制 p-mTORC1 和 SREBP-1c 表达。本实验中,牛磺酸使 ACC Ser79 位点磷酸化水平增加,而 ACC 的磷酸化是受 AMPK 调控的,这进一步表明牛磺酸可通过激活高脂膳食大鼠肝细胞 AMPK 而抑制 p-mTORC1 和 SREBP-1c,从而发挥抑制肝细胞脂肪合成的作用。

牛磺酸能降低肥胖大鼠体重、附睾脂肪指数、血清和肝脏脂质,有效改善高脂膳食诱导的脂肪性肝损伤和炎症,改善高脂膳食对 IRS1/PI3K/Akt 通路的抑制,但并非通过该通路抑制 SREBP-1c 表达而干预大鼠肝脏脂肪合成。深入的研究将进一步揭示在高脂膳食状态下牛磺酸干预肝脏脂肪合成的作用机制。

#### 参考文献

- 1 Fan JG, Zhuang H. Guidelines for Prevention and Treatment of Fatty Liver in China: Popular Science Edition(中国脂肪肝防治指南:科普版)[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publisher, 2018.
- 2 Neuschwander-Tetri BA, Clark JM, Bass NM, et al. Clinical, laboratory and histological associations in adults with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*, 2010, 52: 913-924.
- 3 Ripps H, Shen W. Review: taurine; a "very essential" amino acid[J]. *Mol Vis*, 2012, 18: 2673-2686.
- 4 Chen SW, Chen YX, Shi J, et al. The restorative effect of taurine on experimental nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Digest Dis Sci*, 2006, 51: 2225-2234.
- 5 Chang YY, Chou CH, Chiu CH, et al. Preventive effects of taurine on development of hepatic steatosis induced by a high-fat/cholesterol dietary habit[J]. *J Agr Food Chem*, 2011, 59: 450-457.
- 6 Yanagita T, Han SY, Hu Y, et al. Taurine reduces the secretion of apolipoprotein B100 and lipids in HepG2 cells[J]. *Lipids Health Dis*, 2008(7): 38.
- 7 Ma YX, Song Q, Zhang J, et al. Effect of taurine on triglycer-



- ide synthesis in HepG2 cells[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2020,32:867-873.
- 8 Jeon TI, Osborne TF. SREBPs: metabolic integrators in physiology and metabolism[J]. *Trends Endocrinol Metab*,2012,23(2):65-72.
  - 9 Xu X, So JS, Park JG, et al. Transcriptional control of hepatic lipid metabolism by SREBP and ChREBP[J]. *Semin Liver Dis*,2013,33:301-311.
  - 10 Yecies JL, Zhang HH, Menon S, et al. Akt stimulates hepatic SREBP1c and lipogenesis through parallel mTORC1-dependent and independent pathways[J]. *Cell Metab*,2011,14(1):21-32.
  - 11 Mashek DG, Bornfeldt KE, Coleman RA, et al. Revised nomenclature for the mammalian long-chain acyl-CoA synthetase gene family[J]. *J Lipid Res*,2004,45:1958-1961.
  - 12 Murakami S, Ono A, Kawasaki A, et al. Taurine attenuates the development of hepatic steatosis through the inhibition of oxidative stress in a model of nonalcoholic fatty liver disease *in vivo* and *in vitro*[J]. *Amino Acids*,2018,50:1279-1288.
  - 13 Zhu W, Chen S, Chen R, et al. Taurine and tea polyphenols combination ameliorate nonalcoholic steatohepatitis in rats[J]. *BMC Complement Altern Med*,2017,17(1):455.
  - 14 Shao W, Espenshade PJ. Expanding roles for SREBP in metabolism[J]. *Cell Metab*,2012,16:414-419.
  - 15 Fang DL, Wan Y, Shen W, et al. Endoplasmic reticulum stress leads to lipid accumulation through upregulation of SREBP-1c in normal hepatic and hepatoma cells[J]. *Mol Cell Biochem*.2013,381(1-2):127-137.
  - 16 Zhang J, Nakatsu Y, Shinjo T, et al. Par14 protein associates with insulin receptor substrate 1 (IRS-1), thereby enhancing insulin-induced IRS-1 phosphorylation and metabolic actions[J]. *J Biol Chem*,2013,288:20692-20701.
  - 17 Osorio-Fuentealba C, Klip A. Dissecting signalling by individual Akt/PKB isoforms, three steps at once[J]. *Biochem J*,2015,470(2):e13-e16.
  - 18 Owen JL, Zhang Y, Bae SH, et al. Insulin stimulation of SREBP-1c processing in transgenic rat hepatocytes requires p70 S6-kinase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2012,109:16184-16189.
  - 19 Zhao D, Lv Q, Yang J, et al. Taurine improves lipid metabolism and skeletal muscle sensitivity to insulin in rats fed with high sugar and high fat diet[J]. *Adv Exp Med Biol*,2019,1155:133-146.
  - 20 Wu N, Lu Y, He B, et al. Taurine prevents free fatty acid-induced hepatic insulin resistance in association with inhibiting JNK1 activation and improving insulin signaling *in vivo*[J]. *Diabetes Res Clin Pract*,2010,90:288-296.
  - 21 Batista TM, Ribeiro RA, da Silva PM, et al. Taurine supplementation improves liver glucose control in normal protein and malnourished mice fed a high-fat diet[J]. *Mol Nutr Food Res*,2013,57:423-434.
  - 22 Ross FA, MacKintosh C, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: a cellular energy sensor that comes in 12 flavours[J]. *FEBS J*,2016,283:2987-3001.
  - 23 Li Y, Xu S, Mihaylova MM, et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice[J]. *Cell Metab*,2011,13:376-388.