



# 加味二陈汤对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠脂质代谢及肝细胞形态的影响

谢雪姣, 徐佳, 李亚梅, 吴若霞, 廖端芳, 陈聪伶, 尹栋梁

(湖南中医药大学, 长沙 410208)

**【摘要】** 目的 观察加味二陈汤对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠血脂的影响。方法 44 只 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠以高脂饲养 4 周构建 AS 小鼠模型, 分别用辛伐他汀、加味二陈汤对小鼠灌胃给药, 8 周后处死小鼠, 酶法检测血清血脂; 每周称取并记录小鼠体重; 油红 O 染色观察小鼠主动脉管腔内粥样斑块; HE 染色观察小鼠主动脉管腔内粥样斑块沉积及肝细胞形态。结果 加味二陈汤可显著降低小鼠血清中 TCHOL、LDL-C 水平 ( $P < 0.01$ ); 各组小鼠体重均有所增加, 但模型组小鼠体重略高于空白对照组和加味二陈汤组; 油红 O 染色结果显示加味二陈汤可显著减少 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠主动脉管腔内粥样斑块的面积; 小鼠主动脉 HE 染色示加味二陈汤组小鼠主动脉内有脂质沉积斑块较模型组明显减少; 肝细胞切片 HE 染色发现加味二陈汤组小鼠肝细胞的病变程度较轻, 肝小叶结构较清晰。结论 加味二陈汤能有效降低 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠血清中有关脂质的含量, 调节小鼠脂质代谢, 缓解动脉粥样硬化进程。

**【关键词】** 加味二陈汤; 动脉粥样硬化; 血脂; HE 染色

**【中图分类号】** R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 04-0044-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.004.009

## Effects of the Chinese medicine, modified Erchen decoction, on the lipid metabolism and hepatocyte morphology in ApoE<sup>-/-</sup> mice

XIE Xue-jiao, XU Jia, LI Ya-mei, WU Ruo-xia, LIAO Duan-fang,  
CHENG Cong-ling, YIN Dong-liang

(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the effects of the Chinese medicine, modified Erchen decoction, on the serum lipid spectrum of ApoE<sup>-/-</sup> mice, and to explore its possible anti-atherosclerotic mechanism. **Methods** Forty-four male 7-8-week old ApoE<sup>-/-</sup> mice were used in this experiment. ApoE<sup>-/-</sup> mouse models of atherosclerosis were generated by high-cholesterol diet for 4 weeks. And then, they were given simvastatin or modified Erchen decoction by gavage. The body weight of mice was recorded every week, The mice were sacrificed after treated with the drugs for 8 weeks continuously, and the plasma lipid was determined by enzymatic method. The aortic valves and arches were stained with oil red O to depict atherosclerotic plaques and liver structural changes of the mice were examined by pathology. **Results** Modified Erchen decoction lowered plasma lipid (including TCHOL and LDL-C) significantly ( $P < 0.01$ ). The body weight was

**【基金项目】** 全国第五批老中医药专家学术经验继承项目, 湖南省教育厅科研青年项目 (编号 11B092); 2011 湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目 (编号 481); 湖南省中医药科研计划项目 (编号 201236); 湖南省中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地资助。

**【作者简介】** 谢雪姣, 女, 医学博士, 副教授, 硕士生导师, 全国第五批老中医药专家学术经验继承人, 主要从事心脑血管疾病中医药防治研究与中医人才培养研究, E-mail: 99511298@qq.com。

**【通讯作者】** 廖端芳, 男, 医学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事动脉粥样硬化研究, E-mail: dfliao66@aliyun.com。

increased in the mice of all groups, but it was more pronounced in the mice of model group than in the blank and modified Erchen decoction groups. The serum CHOL and LDL-C levels were significantly lowered in the modified Erchen decoction group ( $P < 0.01$ ). The area of atherosclerotic plaques in the aortic wall was significantly reduced in the mice of modified Erchen decoction group as shown by oil red O staining. The pathological changes of hepatocytes were less severe and the structure of hepatic lobules was better preserved in the mice of modified Erchen decoction group. **Conclusions** The Chinese medicine modified Erchen decoction can effectively reduce serum lipids, regulate lipid metabolism, and ameliorate the process of atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice.

**【Key words】** Modified Erchen decoction; Atherosclerosis; Serum lipid; Aorta; Pathology; ApoE<sup>-/-</sup> mice

二陈汤始见于宋·《太平惠民和剂局方·卷四》，方用半夏(汤洗7次)、橘红各五两、白茯苓三两、甘草(炙)一两半、生姜七片、乌梅1个。主治“痰饮为患，或呕吐恶心，或头眩心悸，或中脘不快，或发为寒热，或因食生冷，脾胃不和”。现代二陈汤多用于代谢性疾病、肺系疾病、心血管疾病等<sup>[1-3]</sup>。本研究旨在探索加味二陈汤(陈皮、茯苓、半夏、甘草、荷叶、山楂、刺五加)对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠血脂的影响，为其治疗动脉粥样硬化提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 实验动物:7~8 周龄雄性 ApoE<sup>-/-</sup> 基因敲除小鼠 44 只,体重(19~21)g,品系为 C57BL/6J,由北京大学医学部实验动物中心从美国 Jackson 实验室引进【SCXK(京)2011-0012】,繁育动物饲养及无菌手术均在湖南中医药大学实验动物中心屏障动物实验设施进行,使用许可证号【SYXK(湘):2013-0005】,并按实验动物使用的“3R”原则给予人道的关怀。

1.1.2 实验药物及饲料:茯苓 15 g、陈皮 10 g、法半夏 10 g、甘草 6 g、荷叶 10 g、山楂 15 g、刺五加 10 g 加水煎煮 30 min 后趁热过滤,浓缩至生药 0.5 g 生药/mL,制得煎液。高脂饲料(胆固醇 1%,猪油 5%,普通饲料 94%)由湖南中医药大学实验动物中心加工制作。小鼠用垫料购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。

### 1.2 实验方法

将 44 只 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠适应性喂养 1 周后,随机抽取小鼠 12 只,普通饲料喂养,作为空白对照组;其余 32 只,高脂饲料喂养,予自由饮水。4 周后,随机抽取小鼠 4 只(空白对照组 2 只,模型组 2 只),检测小鼠血脂,对小鼠心脏主动脉和主动脉瓣行油红 O 染色,证实 AS 模型已制备成功。按小鼠体重,采用随机区组方法将动物分为 3 组,模型组( $n = 10$ ),辛

伐他汀组( $n = 10$ ),加味二陈汤组( $n = 10$ )。

空白对照组与模型组小鼠均给予同用药组等体积的生理盐水灌胃,辛伐他汀组小鼠给予辛伐他汀 3 mg/(Kg·d)<sup>[4]</sup>灌胃,加味二陈汤小鼠给予其浸膏按生药量 2.2 g/Kg·d 灌胃。灌胃体积均为 20 mL/Kg·d,配制药液的溶剂均为生理盐水。各组动物灌胃 8 周后,禁食不禁水 12 h,经眼眶静脉丛取血,备用。用 4% 多聚甲醛溶液从小鼠左心室灌流 30 min 后,剥离主动脉后,常温保存在 4% 多聚甲醛溶液中,备用。

### 1.3 检测指标

应用全自动生化仪,检测总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)。剥离的主动脉行油红 O 染色,观察主动脉内脂质染色情况,HE 染色观察主动脉瓣脂质沉积及肝细胞形态,双目显微镜采集图片。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计,数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,LSD 方法进行检验。因动物在饲养过程中有死亡以及个别小鼠采血不足,在数据统计分析时,每组取 8 只小鼠的数据。

## 2 实验结果

### 2.1 加味二陈汤对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠血清血脂水平的影响

由表 1 可见,与空白对照组相比,模型组血清 TG、TCHOL、HDL-C、LDL-C 均明显升高( $P < 0.01$ ),表明模型组出现脂质代谢紊乱。与模型组相比,辛伐他汀组血清 TG、TCHOL、LDL-C 均降低( $P < 0.01$ );加味二陈汤组血清 TCHOL、LDL-C 均明显降低( $P < 0.05$ )。说明加味二陈汤同辛伐他汀一样,具有明显的降脂功效。

表 1 加味二陈汤对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠血脂水平的影响 (n=8,  $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)Tab. 1 Effects of modified Erchen decoction on serum lipid level in the ApoE<sup>-/-</sup> mice (n=8,  $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

组别 Groups	剂量 Dose	甘油三酯 TG	总胆固醇 TCHDL	高密度脂蛋白 HDL-C	低密度脂蛋白 LDL-C
空白组 Normal	0.2 mL/Kg·d	0.48 ± 0.09 <sup>##</sup>	8.18 ± 1.01 <sup>##</sup>	3.76 ± 0.44 <sup>##</sup>	5.45 ± 0.87 <sup>##</sup>
模型组 Model	0.2 mL/Kg·d	0.74 ± 0.22 <sup>**</sup>	10.97 ± 0.78 <sup>**</sup>	4.96 ± 0.66 <sup>**</sup>	7.35 ± 0.91 <sup>**</sup>
辛伐他汀组 Simvastatin	3 mg/Kg·d	0.58 ± 0.17	8.16 ± 0.84 <sup>##</sup>	3.85 ± 0.46 <sup>##</sup>	5.58 ± 0.85 <sup>##</sup>
加味二陈汤 Modified Erchen decoction	1.16 mg/Kg·d	0.72 ± 0.23 <sup>**</sup>	9.26 ± 1.07 <sup>**##</sup>	4.22 ± 0.66 <sup>##</sup>	6.27 ± 0.83 <sup>#</sup>

注:与空白对照组相比, \*P<0.05, \*\*P<0.01;与模型组相比, #P<0.05, ##P<0.01。

Note. Compared with the normal group, \*P<0.05, \*\*P<0.01; Compared with the model group, #P<0.05, ##P<0.01.

## 2.2 加味二陈汤对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠主动脉脂质沉积斑块的影响

油红 O 能特异性结合脂质而产生肉眼可见的红色,对小鼠主动脉行油红 O 大体染色,能对整条主动脉做全局观察。由图 1 可知,模型组小鼠主动脉弓和主动脉干管腔内均可见大量脂质堆积,而辛伐他汀、加味二陈汤组小鼠主动脉弓和主动脉干管腔内脂质沉积斑块均明显少于模型组(图 1 见文后彩插 3)。

## 2.3 加味二陈汤对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠主动脉管腔内斑块沉积的影响

对小鼠主动脉行 HE 染色,观察主动脉管腔内脂质斑块沉积,结果如图 2 所示(图 2 见文后彩插 3)。对小鼠的主动脉石蜡切片行 HE 染色,细胞核呈蓝色,细胞浆、结缔组织等呈不同程度的红色,结果如图 2 所示,空白对照组小鼠主动脉内膜完整、光滑,未见明显增厚的现象,无泡沫细胞浸润;而模型组小鼠主动脉内可见大量脂质堆积形成的斑块,且有斑块破裂增生的迹象,有炎症细胞浸润;辛伐他汀组小鼠主动脉内膜有增厚迹象,但没有明显的斑块形成;加味二陈汤组小鼠主动脉内有脂质沉积斑块形成,但与模型组相比,斑块明显减少,且未见明显炎症细胞浸润。

## 2.4 加味二陈汤对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠肝脏脂质沉积的影响

对小鼠肝脏切片行 HE 染色,观察肝脏形态,结果如图 3 所示(图 3 见彩插)。在光学显微镜下显示空白对照组小鼠的肝细胞大小较正常,肝小叶结构清晰,细胞质分布均匀,肝细胞内仅未见明显的空泡。模型组小鼠肝细胞出现肿胀现象,肝细胞脂肪变性明显,肝小叶结构破坏,有局灶性炎症细胞浸润。与模型组相比,辛伐他汀组小鼠肝细胞的病变程度明显减轻,细胞形态趋于正常,细胞内脂肪空泡和脂变细胞数减少,细胞肿胀程度也有所减轻。与模型组相比,加味二陈汤组小鼠肝细胞的病

变程度明显减轻,细胞内的脂肪空泡少于模型组,肝小叶结构较清晰。

## 3 讨论

二陈汤出自《太平惠民和剂局方》,因方中半夏、橘红以陈久者良而命名为“二陈”,为祛痰的通用方剂。加味二陈汤乃二陈汤去乌梅、生姜,加荷叶、山楂、刺五加组成,方中以法夏为君,取其辛温性燥,善能燥湿化痰,且又降逆和胃;以陈皮为臣,理气燥湿祛痰,燥湿以助半夏化痰之力,理气可使气顺则痰消;痰由湿生,湿自脾来,故佐以茯苓健脾渗湿,使湿去脾旺,痰无由生;去掉降逆之生姜、酸收之乌梅,加自古奉为瘦身的良药荷叶加以山楂健脾消食,化滞消积;刺五加益气健脾;荷叶健脾升阳,消暑利湿,共助痰湿从下而解且不伤脾阳;以甘草为使药,调和药性而兼润肺和中。诸药合用,标本兼顾,燥湿化痰,行气消脂,活血通脉。笔者临床将其辨证论治用于单纯性肥胖、高脂血症、冠状动脉粥样硬化性心脏病等疾病,屡收奇效。

实验研究表明二陈汤能显著降低高脂饮食大鼠的血脂水平,改善胰岛素抵抗,并减轻其体重<sup>[4]</sup>。张晗等<sup>[5]</sup>通过临床观察发现二陈汤合大柴胡汤能明显改善代谢综合征患者的高血糖、高血脂、高血压和肥胖等症状。李刚等<sup>[6]</sup>发现山楂黄酮类中的表儿茶素、多酚类缩合黄烷聚合物及有机酸中的总三萜酸等不饱和酸是降血脂的活性成分。荷叶有较好的调节血脂功效,其主要活性组分是生物碱和黄酮类化合物。且实验证明荷叶煎剂可有效降低 TC、TG、LDL-C 水平,并能改善血液粘稠度<sup>[7]</sup>;睢大员等<sup>[8]</sup>通过大鼠实验发现刺五加叶皂苷(ASS)可能通过调节体内血脂代谢提高 PGI<sub>2</sub>/TXA<sub>2</sub> 比值及纠正自由基代谢紊乱,发挥抗动脉粥样硬化作用。

本研究结果也表明加味二陈汤组血清 TCHOL、LDL-C 均明显降低(P<0.05);小鼠主动脉弓和主动脉干管腔内脂质沉积斑块均明显少于模型组;小

鼠主动脉内有脂质沉积斑块形成,但与模型组相比,斑块明显减少,且未见明显炎症细胞浸润;与模型组相比,小鼠肝细胞的病变程度明显减轻,细胞内的脂肪空泡少于模型组,肝小叶结构较清晰。初步证明加味二陈汤对脂质代谢紊乱有较好的调节效果,可显著降低 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠 TCHOL、LDL-C 水平,减少 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉管腔内粥样斑块的面积,为临床使用加味二陈汤治疗动脉粥样硬化等代谢性疾病提供了依据<sup>[9]</sup>,同时也为加味二陈汤的组方提供科学依据。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 杨超. 二陈汤加减治疗慢性咳嗽 120 例临床观察[J]. 临床医药文献电子杂志,2014,12:2082-2083.
- [ 2 ] 吴同玉, 林山, 郑良善. 二陈汤对高脂饮食 Wistar 大鼠体重及其血脂代谢的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2012, 36(11): 1218-1238.
- [ 3 ] 李文生. 二陈汤加味治疗非酒精性脂肪肝 29 例临床观察[J]. 湖南中医杂志,2014,01:44-45
- [ 4 ] 丁珊珊, 康洁, 张凌媛, 等. 二陈汤对高脂饮食大鼠血脂及胰岛素抵抗的影响[J]. 中国医学创新, 2014, 11(15): 22-24.
- [ 5 ] 张晗, 刘金苓. 痰湿瘀论治代谢综合征的临床研究[J]. 中外医疗, 2014(6): 131-133.
- [ 6 ] 李刚, 梁新红, 葛晓虹. 山楂化学成分及其保健功能特性[J]. 江苏调味副食品, 2009, 26(6): 25-27.
- [ 7 ] 周健鹏. 荷叶化学成分和药理作用研究进展[J]. 天津药学, 2014, 26(2): 65-68.
- [ 8 ] 睢大员, 韩丛成, 于晓风, 等. 刺五加叶皂苷对高脂血症大鼠血脂代谢的影响及其抗氧化作用[J]. 吉林大学学报, 2004, 30(1): 56-59.
- [ 9 ] 薛欣, 李海玉, 李玉梅, 张立石. 从痰论治脂肪肝机制探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 11: 1472-1475.
- [ 10 ] 杨超, 王超, 王超, 等. 二陈汤加减治疗慢性咳嗽 120 例临床观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2014, 12: 2082-2083.
- [ 11 ] 徐立, 时乐. 小鼠代谢性高尿酸血症模型的复制方法初探[J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(01): 1-4.
- [ 12 ] Yang SJ, Shoi JM, Park SE, et al. Preventive effects of bitter melon (*Momordica charantia*) against insulin resistance and diabetes are associated with the inhibition of NF-kappaB and JNK pathways in high-fat-fed OLETF rats[J]. J Nutr Biochem, 2015, 26(3): 234-240.
- [ 13 ] Brahmanaidu P, Nemani H, Meriga B, et al. Mitigating efficacy of piperine in the physiological derangements of high fat diet induced obesity in Sprague Dawley rats[J]. Chem Biol Interact, 2014, 221: 42-51.
- [ 14 ] 徐黎明, 石巧娟, 徐磊, 等. 蒙古沙鼠非酒精性脂肪性肝病模型的建立与评价[J]. 浙江预防医学, 2007, 19(11): 1-7.
- [ 15 ] Wang Y, Sternfeld L, Yang F, et al. Enhanced susceptibility to pancreatitis in severe hypertriglyceridaemic lipoprotein lipase-deficient mice and agonist-like function of pancreatic lipase in pancreatic cells[J]. Gut, 2009, 58(3): 422-430.
- [ 16 ] 于洪志. 高脂饮食对大鼠肺组织 CTGF 的影响[J]. 西南军医, 2013, 15(05): 487-489.

[ 修回日期 ] 2015-02-15

[ 修回日期 ] 2015-02-08

(上接第 43 页)

方法的探讨[J]. 青岛大学医学院学报, 2010, 46(03): 219-221.