

金花茶对衰老大鼠脂代谢及肝细胞凋亡的影响

卢春毅¹, 刘红¹, 杨曦¹, 覃保瑜¹, 岳惠芬²

(1. 广西医科大学第一附属医院老年内分泌科, 2. 广西肿瘤研究所, 广西南宁市 530022)

[关键词] 金花茶; 衰老; 动脉粥样硬化; 血脂; 脂肪肝; 凋亡

[摘要] **目的** 探讨金花茶调节衰老大鼠脂代谢及抗肝凋亡的作用。**方法** 健康雄性 SD 大鼠 40 只随机分为 4 组。1 组为空白对照组, 2~4 组予 D-半乳糖腹腔注射法建立大鼠亚急性衰老模型后, 其中 2 组作为衰老模型组, 3、4 组再分别以高、低浓度金花茶灌胃干预 40 天。测大鼠尾静脉血总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白和低密度脂蛋白含量, 测肝脏组织总胆固醇、甘油三酯含量和 Bcl-2、Bax mRNA 表达水平。**结果** 与衰老模型组相比, 高、低浓度金花茶干预组大鼠血清高密度脂蛋白浓度和 Bcl-2 mRNA 显著升高 ($P < 0.05$); 血清总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白浓度和肝组织总胆固醇、甘油三酯含量、Bax mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。高、低浓度金花茶组间比较, 上述指标有统计学差异 ($P < 0.05$)。**结论** 金花茶可调节衰老大鼠的血脂, 减少肝脏脂肪堆积, 降低肝细胞凋亡水平, 以降低动脉粥样硬化发病风险。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

Effect of *Camellia Chrysantha* (Hu) Tuyama on Lipid Metabolism and Hepatic Apoptosis in Aging Rats

LU Chun-Yi¹, LIU Hong¹, YANG Xi¹, QING Bao-Yu¹, and YUE Hui-Fen²

(1. Department of Geriatric Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 2. Guangxi Institute for Cancer Research, Nanning, Guangxi 530022, China)

[KEY WORDS] *Camellia Chrysantha* (Hu) Tuyama; Aging; Atherosclerosis; Blood Lipid; Fatty Liver Disease; Hepatic Apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether the *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama can improve lipid metabolism and decrease hepatic apoptosis in aging rats. **Methods** Forty healthy male SD rats were recruited and divided into two groups randomly as follow: group 1 is normal control, group 2 to group 4 was subacute aging model induced by subcutaneous injection with D-galactose. Group 3 and 4 were treated with high/low *Camellia chrysantha* concentration respectively, meanwhile the group 2 was treated with saline as the control. Assay the levels of serum lipid in tail vein including the triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDLC) and high density lipoprotein cholesterol (HDLC). Test liver issue content of TC, TG, and the level of mRNA expression of Bcl-2 and Bax. **Results** Compared with the control group, serum HDLC level and Bcl-2 expression level of the treatment group increased significantly, while serum TC, TG, LDLC content as well as the TC, TG, Bax expression levels associated with the liver tissues declined markedly ($P < 0.05$). These indicators still exhibited significant difference with comparison between high and low *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama groups ($P < 0.05$). **Conclusions** *Camellia chrysantha* can improve lipid metabolism, reduce fataccumulation in liver which may decrease the hepatic apoptosis in aging rats, to reduce the risk of atherosclerosis.

心血管病已成为我国城市和乡村人群的第一位死亡原因, 以动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 为

基础的缺血性心血管病 (包括冠心病和缺血性脑卒中) 发病率正在升高, 在我国 60 岁以上人群中发病

[收稿日期] 2011-12-19

[基金项目] 广西壮族自治区中医药管理局自筹经费科研课题 (g22c1055)

[作者简介] 卢春毅, 硕士研究生, 医师, 研究方向为内分泌代谢及血管并发症疾病, 电话为 13597110086, E-mail 为 ley_cool@yahoo.cn. 通讯作者刘红, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为内分泌代谢病 (尤其胰岛素抵抗)、老年内分泌代谢疾病, 电话为 13977191880, E-mail 为 hongmm1@qq.com. 杨曦, 在读博士, 主治医师, 研究方向为内分泌代谢病、老年内分泌代谢疾病。

率高达 79.9%。动脉粥样硬化是老年人健康的一大杀手,目前动脉粥样硬化发生机制尚未得到完全而确切的定论,因此预防动脉粥样硬化发生更有利于老龄机体健康并降低心血管疾病致死率。

广西民族药金花茶[*Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama]享有“茶族皇后”的美誉,富含 400 多种营养物质,具有抗衰老、抗肿瘤、降糖、调脂、降压、增强机体免疫力等作用^[1]。本研究拟制备亚急性衰老模型,以探讨金花茶在衰老进程中防止动脉粥样硬化发生的机制。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

D-半乳糖(博仁生物公司);金花茶(广西桂人堂圆茶:以多酚类物质含量极高的金花茶鲜嫩叶精制而成);总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)试剂盒(南京维特曼生物科技公司);焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)(美国 AMRESCO 公司);DNA Marker(上海生工公司);聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)引物(上海生工公司);Tag DNA 聚合酶(Ptomega 公司)。

1.2 实验动物

雄性 SD 大鼠(180 ~ 220 g)40 只,广西医科大学动物实验中心提供,SPF(specific pathogen free)级饲养,普食。

1.3 动物分组及处理

随机分成 4 组,每组 10 只。模型组和两个用药组采用 D-半乳糖连续腹腔注射 0.2 mg/(g·d)制备亚急性衰老动物模型,每天 1 次,共 40 天。模型组造模成功后不再做任何处理。用药组大鼠造模成功后,一组每天用金花茶 2 mg/g 煮水灌胃,另一组每天用 4 mg/g 煮水灌胃,每天 1 次,共 40 天。对照组大鼠每天灌胃同等剂量的生理盐水,时间同用药组大鼠。最后一次灌胃后全部大鼠尾静脉采血,采血后全部断颈处死,取肝脏测所需指标。

1.4 煮水灌胃方法

低浓度金花茶组:将 100 mL 水煮沸,再放入 20 g 金花茶继续加热 5 min 后,待冷却将茶叶滤出,留茶水待用。每只大鼠灌胃量(mL)=[每只大鼠每天所需茶叶量(2 mg/g)×该大鼠体重(g)/茶水浓度(200 g/L)]。

高浓度金花茶组:将 100 mL 水煮沸,再放入 40 g 金花茶继续加热 5 min 后,待冷却将茶叶滤出,留茶水待用。每只大鼠灌胃量(mL)=[每只大鼠每天所需茶叶量(4 mg/g)×该大鼠体重(g)/茶水浓度(400 g/L)]。

1.5 血脂及肝组织 TC、TG 含量的检测

血清 TC、TG、HDLC、LDLC 及肝组织 TC、TG 等指标按照各试剂盒方法,用日立 7600 全自动生化仪测定。

1.6 肝组织 Bcl-2 和 Bax mRNA 表达的检测

肝组织 Bcl-2 和 Bax 指标,根据 GeneBank 发表的大鼠基因序列,由上海生工设计并合成引物(表 1),取肝组织,用总 RNA 试剂盒提取组织 RNA,依次进行 RNA 检测,逆转录反应,PCR 扩增,扩增条件:95℃ 3 min,95℃ 1 min,58℃ (Bax) 30 s/59℃ (Bcl-2) 30 s,72℃ 1 min,35 个循环后,72℃ 5 min,4℃ 终止反应,电泳成像及分析。

表 1. RT-PCR 引物设计及合成程序

Table 1. RT-PCR primers design and synthesis process

基因	引物序列	产物长度
Bax	上游:5'CTA GCA AAC TGG TGC TCA AGG 3'	178 bp
	下游:5'GAT GGT CAC TGT CTG CCA TGT 3'	
Bcl-2	上游:5'GATTGT GGC CTT CTT TGA GTTC 3'	111 bp
	下游:5'CGGTTC AGG TAC TCA GTC ATCC 3'	

1.7 统计学处理

分析实验数据用 SPSS 13.0 软件包进行统计,所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间差异采用方差分析及 *q* 检验处理。

2 结果

2.1 金花茶对大鼠血脂的影响

模型组大鼠血 TC、TG、LDLC 含量明显升高,HDLC 含量明显降低,与对照组比较有显著差异(均为 $P < 0.05$)。与模型组相比,高、低浓度金花茶组 TC、TG、LDLC 明显降低($P < 0.05$),HDLC 明显升高($P < 0.05$),高、低浓度金花茶组间亦有统计学差异($P < 0.05$),提示高浓度金花茶调血脂效果更佳(表 2)。

2.2 金花茶对大鼠肝组织总胆固醇、甘油三酯的影响

与对照组相比,模型组大鼠肝组织中 TC、TG 含量升高($P < 0.05$);与模型组相比,高、低浓度金花茶组 TC、TG 降低($P < 0.05$),高、低浓度金花茶组

间亦有统计学差异 ($P < 0.05$), 表明金花茶对肝脏 有调脂作用, 且高浓度时作用更强 (表 3)。

表 2. 金花茶对大鼠血清 TC、TG、LDLC 和 HDLC 的影响

Table 2. Effect of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama on the TC, TG, LDLC and HDLC content of serum in rats

分 组	大鼠数(只)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDLC(mmol/L)	HDLC(mmol/L)
对照组	10	1.61 ± 0.63	0.32 ± 0.04	0.13 ± 0.04	1.47 ± 0.04
模型组	10	2.33 ± 0.13 ^a	0.84 ± 0.06 ^a	0.95 ± 0.12 ^a	1.23 ± 0.06 ^a
低浓度金花茶组	10	1.90 ± 0.07 ^b	0.67 ± 0.06 ^b	0.47 ± 0.06 ^b	1.59 ± 0.04 ^b
高浓度金花茶组	10	1.80 ± 0.07 ^{bc}	0.51 ± 0.05 ^{bc}	0.33 ± 0.05 ^{bc}	1.67 ± 0.05 ^{bc}

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型组比较; c 为 $P < 0.05$, 与低浓度金花茶组比较。

表 3. 金花茶对大鼠肝脏 TC 和 TG 的影响

Table 3. Effect of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama on the TC, TG content of liver tissues in rats

分 组	大鼠数(只)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)
对照组	10	1.55 ± 0.06	0.29 ± 0.04
模型组	10	1.97 ± 0.07 ^a	0.82 ± 0.05 ^a
低浓度金花茶组	10	1.88 ± 0.03 ^b	0.63 ± 0.04 ^b
高浓度金花茶组	10	1.77 ± 0.05 ^{bc}	0.41 ± 0.06 ^{bc}

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型组比较; c 为 $P < 0.05$, 与低浓度金花茶组比较。

2.3 金花茶对大鼠肝脏组织 Bcl-2、Bax mRNA 表达的影响

衰老模型组大鼠肝组织中 Bax 表达增高, Bcl-2 表达降低, 与对照组相比有统计学差异 (均为 $P < 0.05$); 与模型组相比, 高、低浓度金花茶组 Bax 表达明显降低 ($P < 0.05$), Bcl-2 表达明显增高 ($P < 0.05$), 高、低浓度金花茶组间亦有统计学差异 ($P < 0.05$)。由此可知金花茶能抑制衰老大鼠肝细胞组织凋亡, 高浓度时抑制作用较强 (表 4)。

表 4. 金花茶对大鼠肝脏 Bcl-2、Bax mRNA 表达的影响

Table 4. *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama effect on Bcl-2, Bax mRNA expression in liver of rats

分 组	大鼠数(只)	Bcl-2 mRNA	Bax mRNA
对照组	10	0.821 ± 0.140	0.272 ± 0.022
模型组	10	0.296 ± 0.025 ^a	0.865 ± 0.189 ^a
低浓度金花茶组	10	0.424 ± 0.015 ^b	0.418 ± 0.035 ^b
高浓度金花茶组	10	0.502 ± 0.016 ^{bc}	0.309 ± 0.005 ^{bc}

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型组比较; c 为 $P < 0.05$, 与低浓度金花茶组比较。

3 讨 论

随着年龄的增加, 机体运动量减少, 脂质代谢减慢, 血脂逐渐升高, 与年龄呈正相关^[2]。血脂过多, 逐渐沉积于血管壁上最终导致动脉粥样硬化。血脂异常作为脂质代谢障碍的表现, 是动脉粥样硬化的主要致病因素^[3], 血清 TC 或 LDLC 随着年龄的增加而升高, 更是冠心病和缺血性脑卒中的独立危险因素之一。HDLC 能将胆固醇从周围组织细胞转运到肝脏, 代谢及排泄过多的胆固醇, 以维持血浆正常胆固醇水平, 是抵抗 As 的重要保护因子。本研究中以 D-半乳糖致亚急性衰老大鼠模型, 其衰老趋势与自然衰老趋势基本一致^[4], 模型组血清 TC、TG、LDLC 比对照组均明显增高, 而 HDLC 亦反之, 提示了老龄机体血脂呈增高趋势并且抵抗 As 能力下降。金花茶能明显改善模型组血脂异常, 调节血脂, 降低 TC、TG、LDLC, 增加 HDLC 含量, 降低了 As 发病风险。

肝脏为脂肪代谢的重要枢纽, 增龄致使肝细胞活性下降, 肝氧化脂肪酸及合成脂蛋白作用减弱, 肝中性脂肪向体循环移出减少, 造成脂肪在肝内不断蓄积, 导致非酒精性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)。NAFLD 与 As 的形成密切相关^[5], 是早期 As 的独立标志物及独立的危险因素^[6]。因此调节血脂和防止脂肪肝形成对降低 As 发病风险有重要作用和意义^[7,8]。根据本研究结果推测, 金花茶可能通过增加抑制凋亡因子 Bcl-2 mRNA 表达, 并下调促凋亡因子 Bax mRNA 的表达, 以延缓增龄过程中肝细胞组织的凋亡, 增加肝细胞活性, 提高肝脏脂肪代谢能力, 并减少老龄机体肝组织中多余的 TC 和 TG 含量, 防止肝实质脂肪化, 抵抗脂肪肝发生的同时亦延缓了 As 的形成。

衰老作为 As 主要的不可逆性危险因素之一不

可避免,因此在增龄过程中降低 As 的发病风险对延缓 As 形成具有重要意义。金花茶可能通过调节血脂和防止脂肪肝形成以抵抗 As 发生,金花茶饮是心血管保护的有效方法之一,其降低 As 发病风险的其他机制仍需进一步探究。

[参考文献]

- [1] 韦璐,秦小明,林华娟,等.金花茶多糖的降血脂功能研究[J].食品科技,2008,34(7):247-249.
- [2] 刘丽君,贺佩祥,任志强,等.健康成年男性血脂随年龄的变化规律及血脂异常的分布特征[J].中国当代医药,2010,17(2):9-11.
- [3] Iversen A, Jensen JS, Scharling H, et al. Hypercholesterolaemia and risk of coronary heart disease in the elderly: impact of age: City Heart Study[J]. Eur J Intern Med,

2009, 20(2): 114-139.

- [4] 洪亮,方胜.三种不同方法建立小鼠衰老模型的比较[J].中国老年学杂志,2010,30(18):2607-608.
- [5] 钟静敏,黄智勇,胡世红.非酒精性脂肪肝与外周动脉硬化化的关系[J].中国动脉硬化杂志,2011,19(1):66-68.
- [6] Targher G, Arcaro G. Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of cardiovascular disease[J]. Atherosclerosis, 2007, 191(2): 235-240.
- [7] 范建高,李锋,蔡晓波,等.非酒精性脂肪性肝病导致代谢紊乱患病率增高的队列研究[J].中华内分泌代谢杂志,2007,23(1):28-29.
- [8] 范建高,蔡晓波.非酒精性脂肪性肝病促进动脉粥样硬化的发生[J].中国动脉硬化杂志,2008,16(1):1-3.
- (此文编辑 曾学清)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊计量单位的使用

我刊使用下列计量单位(各类单位中,第一个单位为基本单位):

- ①长度:m, cm, mm, μm , nm, pm, fm;
- ②质量:g, kg, mg, μg , ng, pg;
- ③时间:s, ms, μs , ns, min, h, d;
- ④电流:A, mA, μA , nA;
- ⑤热力学温度: $^{\circ}\text{C}$,也可用 K;
- ⑥物质的量:mol, mmol, μmol , nmol, pmol;
- ⑦频率:Hz, kHz, MHz, GHz, THz;
- ⑧力、重力:N, kN, MN;
- ⑨压力、压强和应力:Pa, kPa, mPa;
- ⑩能量、功和热:J, kJ;
- ⑪电位、电压和电动势:V, mV, kV;
- ⑫放射性活度:Bq, kBq, MBq, GBq;

⑬容积、体积:L, mL, μL , nL;

⑭转速:r/min, r/s, kr/min, Mr/min;

⑮密度:kg/L;

⑯级差:dB;

⑰溶液浓度:mol/L, mmol/L, $\mu\text{mol/L}$, nmol/L, pmol/L;也可用 g/L, mg/L, $\mu\text{g/L}$, ng/L, pg/L;

⑱一种物质含有另一种物质的量:mol/kg, mmol/g, $\mu\text{mol/g}$, nmol/g, pmol/g;也可用 mg/g, $\mu\text{g/g}$, ng/g;

⑲血压:kPa,也可用 mmHg(1 mmHg = 0.133 3 kPa);其它生理压用 Pa,也可用 cmH_2O (1 cmH_2O = 98 Pa)。

注意:不得使用分母带词头的单位,如/ml、mg/dl等请修改为/L、g/L,但/kg例外。