

本文引用: 陈刘欣, 于凤秀, 朱文君, 等. 蛹虫草多糖对 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠非酒精性脂肪性肝病的保护效应及机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(3): 219-224.

[文章编号] 1007-3949(2022)30-03-0219-06

· 实验研究 ·

## 蛹虫草多糖对 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠非酒精性脂肪性肝病的保护效应及机制

陈刘欣<sup>1</sup>, 于凤秀<sup>1</sup>, 朱文君<sup>1</sup>, 贾修滨<sup>1</sup>, 李宝华<sup>1</sup>, 赵上<sup>1</sup>,  
张颖<sup>1</sup>, 田华<sup>1,2</sup>, 司艳红<sup>1</sup>, 秦树存<sup>1</sup>

(1. 山东第一医科大学 山东省医学科学院, 山东省泰安市 271000; 2. 山东中医药大学, 山东省济南市 250355)

[关键词] 蛹虫草多糖; 非酒精性脂肪性肝病; 甘油三酯; 氧化应激

[摘要] **目的** 确证蛹虫草多糖(CMPS)对高脂饮食诱导的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的保护作用,并探讨相关机制。**方法** 将32只 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠随机分为 ApoE<sup>-/-</sup>组及 CMPS(25、50、100 μg/g)组,均高脂饲养,CMPS组同时喂饲相应剂量 CMPS 干预。另取8只 C57BL/6 小鼠普通饲料喂饲作为野生对照组(WT组)。12周后取材,计算小鼠肝脏指数,HE染色观察肝脏组织学改变,按照试剂盒说明检测血清甘油三酯(TG)浓度及肝脏 TG 浓度、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化脂质(LPO)含量。荧光定量 PCR 及 Western blot 分析肝组织中过氧化物酶体增殖物激活受体 α(PPARα)及酰基辅酶 A 氧化酶 1(ACOX1)的表达水平。**结果** 与 ApoE<sup>-/-</sup>组相比,CMPS 干预可明显降低小鼠肝脏质量和肝脏指数,减轻高脂饮食诱导的肝脂肪变性,逆转肝脏、血清中 TG 水平的升高。同时,CMPS 组肝脏中 PPARα 及 ACOX1 的 mRNA 和蛋白表达均上调。此外,CMPS 喂饲可增加 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠肝脏中抗氧化酶 SOD 活性,降低肝脏 LPO 含量。**结论** CMPS 有效改善高脂饮食诱导的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠非酒精性脂肪性肝病,其机制可能与其促进肝内脂肪酸氧化和抑制氧化应激有关。

[中图分类号] R33;R5

[文献标识码] A

### Protective effect and mechanism of cordycepsmilitaris polysaccharide on nonalcoholic fatty liver disease in ApoE<sup>-/-</sup> mice

CHEN Liuxin<sup>1</sup>, YU Fengxiu<sup>1</sup>, ZHU Wenjun<sup>1</sup>, JIA Xiubin<sup>1</sup>, LI Baohua<sup>1</sup>, ZHAO Shang<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>, TIAN Hua<sup>1,2</sup>, SI Yanhong<sup>1</sup>, QIN Shucun<sup>1</sup>

(1. Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Tai'an, Shandong 271000, China;

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan, Shandong 250355, China)

[KEY WORDS] cordycepsmilitaris polysaccharides; nonalcoholic fatty liver disease; triglyceride; oxidative stress

[ABSTRACT] **Aim** To confirm the protective effect of cordycepsmilitaris polysaccharide (CMPS) on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in ApoE<sup>-/-</sup> mice fed with high-fat diet and explore the underlying mechanism. **Methods**

32 ApoE<sup>-/-</sup> mice were randomly divided into ApoE<sup>-/-</sup> group and CMPS (25, 50, 100 μg/g) treatment groups, all of which were fed with high-fat diet. The treatment groups were simultaneously fed with respective doses of CMPS. Another 8 C57BL/6 mice were fed with chow diet as control group (WT group). After 12-weeks experimental period, the mice were sacrificed. The liver index of mice was calculated and the histological changes of liver were observed by HE staining.

The serum triglyceride (TG) concentration, liver TG concentration, superoxide dismutase (SOD) activity and lipid peroxide (LPO) content were detected according to the kit instructions. The levels of peroxisome proliferator-activated receptor α (PPARα) and acyl-CoA oxidase 1 (ACOX1) were analyzed by quantitative PCR and Western blot. **Results** Com-

[收稿日期] 2021-04-29

[修回日期] 2021-09-25

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81600681);山东第一医科大学学术提升计划(2019QL010、2019PT009);国家级大学生创新创业训练计划项目(201910439038);山东省重点研发计划项目(2019gsf108260)

[作者简介] 陈刘欣,研究方向为蛹虫草多糖的生理活性及构效分析,E-mail 为 3208756454@qq.com。通信作者秦树存,教授,博士研究生导师,研究方向为脂蛋白代谢与心脑血管疾病的防治,E-mail 为 13583815481@163.com。通信作者司艳红,硕士,副教授,研究方向为糖脂代谢紊乱与疾病,E-mail 为 zhaosixinkang@163.com。

pared with ApoE<sup>-/-</sup> group, CMPS treatment significantly reduced liver weight and liver index, alleviated hepatic steatosis induced by high-fat diet, and reversed the increasement of TG levels in liver and serum. Meanwhile, the mRNA and protein expressions of PPAR $\alpha$  and ACOX1 were up-regulated in liver of CMPS treatment groups compared with those of ApoE<sup>-/-</sup> group. In addition, CMPS treatment enhanced the activity of SOD and lowered the content of LPO in the liver of ApoE<sup>-/-</sup> mice. **Conclusion** CMPS can effectively improve NAFLD induced by high-fat diet in ApoE<sup>-/-</sup> mice, which may be related to its promotion of fatty acid oxidation and inhibition of oxidative stress.

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是临床慢性肝病重要原因之一,以肝细胞内脂肪大量沉积为主要特征,伴有肝内炎症和氧化应激反应明显增强,随着病情进展患者可并发肝硬化,甚至肝癌<sup>[1-2]</sup>。近年来,由于营养过剩、运动减少等不健康生活方式流行趋势日渐严重,NAFLD的发病率逐年提高,发病年龄逐年降低,严重威胁人类健康<sup>[3]</sup>。尽管通过均衡饮食、加强运动等干预措施可以改善 NAFLD<sup>[4]</sup>,但患者常常难以坚持。因此,寻找安全有效且无肝毒性的天然药物防治 NAFLD 具有重要现实意义。

蛹虫草是一种珍贵的药食两用真菌,与冬虫夏草具有相近的生物活性。蛹虫草多糖(cordyceps-militaris polysaccharide, CMPS)是蛹虫草中的主要活性成分之一,具有降脂、抗氧化、抗炎、改善肝功能等多种生理功效<sup>[5]</sup>,其药用价值逐渐被国内外学者重视和了解。本研究观察了 CMPS 在 NAFLD 发展中可能的保护作用及其机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要药品与试剂

蛹虫草子实体购自泰安岱珍生物科技有限公司;载脂蛋白 E 基因敲除(apolipoprotein E<sup>-/-</sup>, ApoE<sup>-/-</sup>)雄性小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司;苏木精、伊红(HE)染色液及二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;甘油三酯(triglyceride, TG)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化脂质(lipid peroxide, LPO)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)试剂盒 UltraSYBR Mixture 购自北京康为世纪生物科技有限公司; $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)、酰基辅酶 A 氧化酶 1(acyl-CoA oxidase 1, ACOX1)、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$ (peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , PPAR $\alpha$ )抗体购自 Abcam;二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

### 1.2 主要仪器与设备

旋转蒸发器购自德国 Heidolph 公司;FD8508 真空冷冻干燥机购自韩国 Ilshin 公司;光学显微镜购自日本 OLYMPUS 公司;Spectra MaxiD3 多功能酶标仪购自美国 Molecular Devices 公司;QuantStudio 3 荧光定量 PCR 仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;化学发光凝胶成像分析仪购自杭州亚旭生物科技有限公司。

### 1.3 多糖的分离与纯化

先用 95% 乙醇将蛹虫草子实体粉末回流脱脂 2 次,待沉淀晾干后,使用 5 倍体积的蒸馏水于 95 °C 提取 3 次,离心浓缩得到蛹虫草水提液,然后按 V(水提液):V(无水乙醇)=1:4 沉淀多糖 24 h。再次离心,依次用无水乙醇、丙酮、乙醚各洗涤 2 次沉淀物。晾干后,得到多糖粗提物。粗多糖中的蛋白质采用 Sevage 试剂去除,色素采用 AB-8 大孔吸附树脂去除。采用高效液相凝胶渗透色谱法纯化多糖,经苯酚-硫酸法测定多糖纯度为 62%。

### 1.4 动物处理

8 周龄 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠 32 只适应性饲养 1 周后,随机分为 ApoE<sup>-/-</sup>组及 CMPS(25、50、100  $\mu$ g/g)组,每组 8 只,均高脂饲料(含 15.8% 脂肪和 1.25% 胆固醇)喂养,自由饮水。CMPS 组同时喂饲相应剂量 CMPS 进行干预。另取 8 只同周龄雄性野生型(wild type, WT)C57BL/6 小鼠用普通饲料喂养作为野生对照组(WT 组)。12 周后处死动物,留取血清、肝脏等组织用于后续分析。

### 1.5 肝脏指数的计算

CMPS 干预周期结束时,各组小鼠禁食禁水 12 h,称重并记录,而后 7% 水合氯醛麻醉,解剖取出肝脏,称量肝脏湿重,肝脏指数=肝脏质量(g)/体质量(g) $\times$ 100%。

### 1.6 HE 染色

取肝脏左外叶,浸入多聚甲醛溶液固定,脱水、透明后,放入石蜡中包埋。蜡块切片后脱蜡,苏木精溶液浸染 5 min,伊红溶液浸染 30 s,水洗 3 次,脱水透明,中性树胶封片并在光学显微镜下观察并拍照。

### 1.7 TG 含量测定

取 100 mg 肝组织加入  $V(\text{氯仿}):V(\text{异丙醇})=2:1$  的混合溶剂 2 mL 萃取肝脏脂质,重复 2 次, $\text{N}_2$  吹干后加入 1 mL 无水乙醇复溶,分别按照 TG 试剂盒说明书和 BCA 蛋白定量试剂盒说明书检测肝组织 TG 和总蛋白浓度,结果以每克蛋白中 TG 的相对水平进行表示。血清 TG 水平按说明书测定。

### 1.8 荧光定量 PCR

采用 Trizol 法提取肝组织总 RNA,采用 Ultra-SYBR Mixture 试剂盒进行荧光定量 PCR 并获取 Ct 值。所用引物如下: $\beta$ -actin:上游 5'-TGCTGTCCCTGTAGTCCTCT-3',下游 5'-AGGTCTTTACGGATGTCAACG-3'; PPAR $\alpha$ :上游 5'-TGTCACACAATGCAATCCGTTT-3',下游 5'-TTCAGGTAGGCTTCGTGATTC-3'; ACOX1:上游 5'-TAACTTCCTCACTCGAAGCCA-3',下游 5'-AGTTCATGACCCATCTCTGTC-3'。PCR 反应条件如下:95 °C 10 min,95 °C 10 s,60 °C 30 s,72 °C 32 s,循环 40 个周期。以  $\beta$ -actin 作为内参基因,以  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  计算目的基因 mRNA 相对表达量。

### 1.9 Western blot 分析

通过 RIPA 裂解液提取肝组织总蛋白,将等量蛋白经 10% SDS-PAGE 电泳后,电转至 PVDF 膜。脱脂奶粉封闭 2 h,一抗 0 °C 孵育 12 h,TBS 洗涤后室温下二抗孵育 2 h。再次洗涤后在膜上滴加 ECL 底物液显影定影。采用 Image-ProPlus 软件分析免疫反应条带的 IOD 值,并用  $\beta$ -actin 作为内参计算 PPAR $\alpha$ 、ACOX1 相对表达量。

### 1.10 SOD、LPO 测定

100 mg 肝组织加入 1 mL 生理盐水匀浆,2 000 r/min 离心 10 min 取上清,按试剂盒说明书分别测定 SOD 活性和 LPO 含量,同时测定上清液中蛋白浓度,结果以每克蛋白中的相对水平进行表示。

### 1.11 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  的形式表示。多组间比较采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CMPS 降低了高脂饮食 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠肝脏质量及肝脏指数

与 WT 组相比,ApoE<sup>-/-</sup>组小鼠肝脏质量和肝脏指数均明显增加;CMPS 干预 12 周后,小鼠肝脏质

量和肝脏指数较 ApoE<sup>-/-</sup>组显著降低,其中 50  $\mu\text{g/g}$  和 100  $\mu\text{g/g}$  CMPS 组肝脏质量分别降低了 15.70%、25.58%,25、50、100  $\mu\text{g/g}$  CMPS 组肝脏指数分别降低了 13.68%、17.81%、24.93% (表 1)。

表 1. CMPS 对高脂饮食 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠体质量、肝脏质量及肝脏指数的影响 ( $n=8$ )

Table 1. Effects of CMPS on body weight, liver weight and liver index of ApoE<sup>-/-</sup> mice fed with high-fat diet ( $n=8$ )

分组	体质量/g	肝脏质量/g	肝脏指数/%
WT 组	25.61 $\pm$ 1.44	1.09 $\pm$ 0.07	4.25 $\pm$ 0.05
ApoE <sup>-/-</sup> 组	24.5 $\pm$ 1.04	1.72 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	7.02 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
25 $\mu\text{g/g}$ CMPS 组	25.90 $\pm$ 1.37	1.57 $\pm$ 0.13	6.06 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>
50 $\mu\text{g/g}$ CMPS 组	25.14 $\pm$ 1.18	1.45 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	5.77 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>
100 $\mu\text{g/g}$ CMPS 组	24.27 $\pm$ 0.94	1.28 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	5.27 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>

注:a 为  $P < 0.05$ ,与 WT 组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与 ApoE<sup>-/-</sup>组比较。

### 2.2 CMPS 减轻了高脂饮食 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠肝脂肪变性并下调 TG 水平

肝组织 HE 染色结果发现:WT 组小鼠肝细胞结构正常,肝索沿中央静脉呈放射状排列;ApoE<sup>-/-</sup>小鼠高脂饮食 12 周 (ApoE<sup>-/-</sup>组)后,肝组织出现了明显脂肪变性,大量脂肪空泡形成并伴有炎细胞浸润;然而,CMPS 喂饲 (25、50、100  $\mu\text{g/g}$  CMPS)可使肝脏中脂肪空泡数量显著减少,肝细胞排列趋于有序,显著改善肝脏组织学损伤 (图 1A)。

TG 水平检测结果显示:与 WT 组相比,ApoE<sup>-/-</sup>组小鼠高脂饮食导致肝脏及血清 TG 明显升高,而每天 50  $\mu\text{g/g}$  及 100  $\mu\text{g/g}$  CMPS 干预可使肝脏 TG 含量分别降低了 14.3% 和 20.9% (图 1B),血清 TG 含量分别降低了 27.5% 和 35.3% (图 1C)。

### 2.3 CMPS 上调了高脂饮食 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠肝脏中脂肪酸氧化酶 ACOX1 及其上游调节因子 PPAR $\alpha$ 的表达

荧光定量 PCR 和 Western blot 检测肝脏中脂肪酸氧化酶 ACOX1 及其上游调节因子 PPAR $\alpha$  的 mRNA 和蛋白表达,结果表明:与 WT 组相比,ApoE<sup>-/-</sup>组小鼠高脂饮食后 ACOX1 与 PPAR $\alpha$  mRNA 及蛋白水平均明显升高,而 CMPS 处理进一步上调了肝脏 ACOX1 与 PPAR $\alpha$  表达 (图 2)。

### 2.4 CMPS 抑制了高脂饮食 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠肝脏中氧化应激反应

ApoE<sup>-/-</sup>小鼠高脂饮食后肝内 SOD 活性降低,

LPO 水平升高,提示肝脏出现了氧化损伤,而应用 CMPS 后,50 和 100  $\mu\text{g/g}$  CMPS 组 SOD 活性分别升

高了 34.9% 和 43.0%,100  $\mu\text{g/g}$  CMPS 组 LPO 含量降低了 29.3% (图 3)。

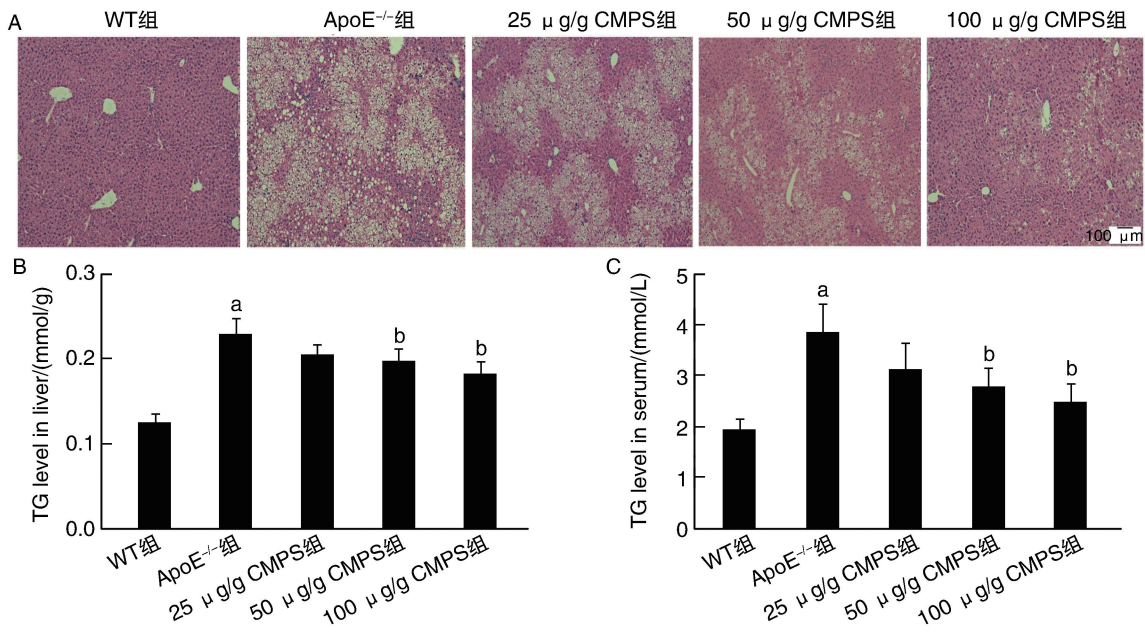


图 1. CMPS 对高脂饮食 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠肝脏脂肪变性及 TG 水平的影响 (n=8)

A 为肝组织 HE 染色结果;B 为肝脏 TG 含量;C 为血清 TG 浓度。a 为 P<0.05,与 WT 组比较;b 为 P<0.05,与 ApoE<sup>-/-</sup>组比较。

Figure 1. Effects of CMPS on hepatic steatosis and TG level in ApoE<sup>-/-</sup> mice fed with high-fat diet (n=8)

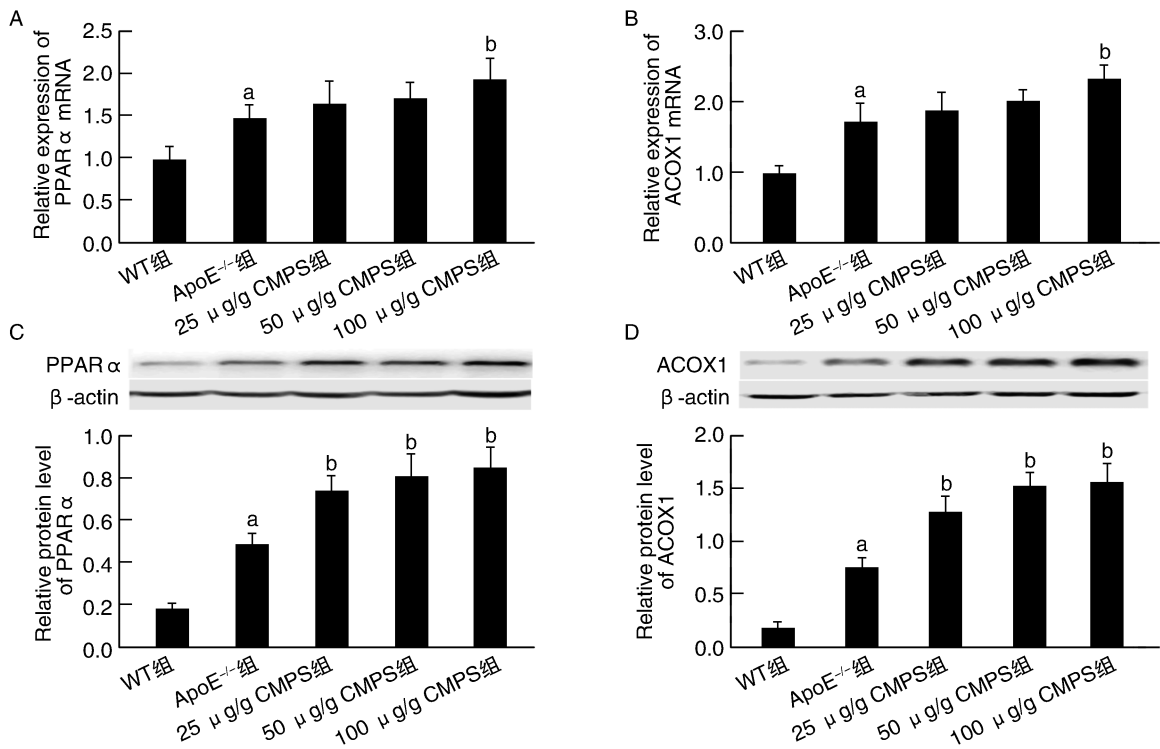


图 2. CMPS 上调了高脂饮食 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠肝脏中 PPARα 及 ACOX1 表达 (n=5)

A 为 PPARα 的 mRNA 水平;B 为 ACOX1 的 mRNA 水平;C 为 PPARα 的蛋白水平;D 为 ACOX1 的蛋白水平。

a 为 P<0.05,与 WT 组比较;b 为 P<0.05,与 ApoE<sup>-/-</sup>组比较。

Figure 2. CMPS up-regulated the expressions of PPARα and ACOX1 in the liver of ApoE<sup>-/-</sup> mice fed with high-fat diet (n=5)

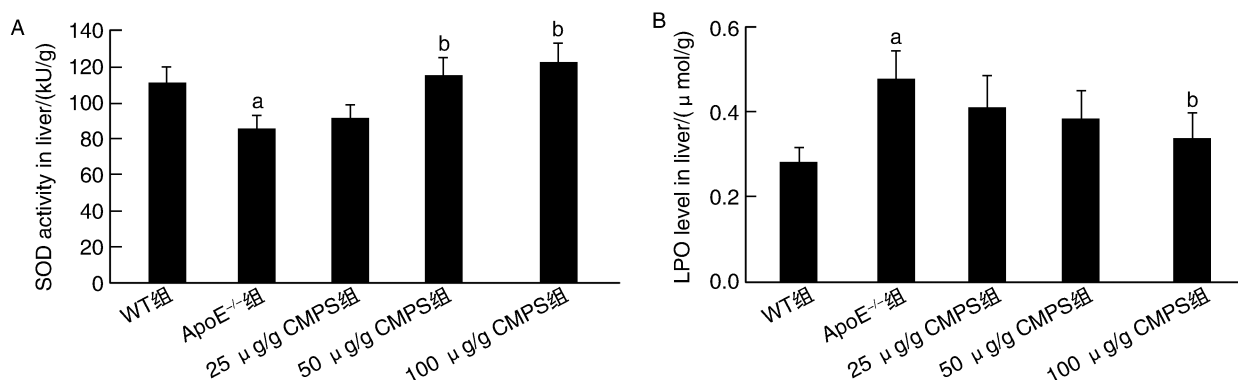


图 3. CMPS 抑制了高脂饮食 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠肝脏中氧化应激反应 (n=8)

A 为肝脏中 SOD 活性; B 为肝脏中 LPO 含量。a 为  $P < 0.05$ , 与 WT 组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 ApoE<sup>-/-</sup> 组比较。

Figure 3. CMPS increased SOD activity and decreased LPO content in liver of ApoE<sup>-/-</sup> mice fed with high-fat diet (n=8)

### 3 讨论

可以认为 NAFLD 是代谢综合征的肝脏表现, 患者往往同时存在高血糖、胰岛素抵抗、高 TG 血症、肥胖, 并易于诱发动脉粥样硬化性心血管疾病, 对健康危害极大<sup>[6-8]</sup>。NAFLD 一般是由食物中过量脂肪酸被肝脏大量摄取, 并在肝细胞内通过酯化反应形成脂滴储存于胞质中引起。如果患者存在胰岛素抵抗, 高血糖刺激可导致高胰岛素血症, 这将进一步促进肝脏脂肪合成, 抑制脂肪酸的氧化分解, 加重肝脂肪变性<sup>[9]</sup>。本研究中, CMPS 干预可明显降低 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠肝脏质量和肝脏指数, 减轻肝脂肪变性及肝脏和血清中的 TG 含量, 这说明 CMPS 对高脂诱导的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠 NAFLD 具有保护作用。

脂肪酸 β 氧化是肝细胞脂质分解和清除的重要途径, 而 ACOX1 是 β 氧化途径的第一限速酶, 其表达受 PPARα 调控<sup>[10]</sup>。PPAR 为核激素受体超家族成员之一, 主要包括 PPARα、PPARβ、PPARγ 三种亚型, 其中 PPARα 主要在肝脏表达, 可上调与 β 氧化相关的下游基因, 如 ACOX1、肉碱棕榈酰转移酶 I 等, 从而促进脂肪酸分解, 调节肝内脂质平衡<sup>[11]</sup>。PPARα 内源性配体包括游离脂肪酸、二十碳烯酸以及各种复合脂质。与配体结合后, PPARα 将与维甲酸 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 形成异二聚体 PPARα/RXR, 然后与靶基因上的过氧化物酶体增殖物激活受体反应元件 (peroxisome proliferator response element, PPRE) 结合, 调节靶基因转录<sup>[12]</sup>。本研究中, 与 WT 小鼠相比, ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠高脂饮食后肝内脂质蓄积, 内源性配体明显增加促进 PPARα、ACOX1 表达上调, 以加速肝脏脂肪酸氧化,

这是机体适应性或保护性反应。然而, 值得注意的是, 尽管 CMPS 治疗后 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠肝脏中脂质含量减少, PPARα 及 ACOX1 的 mRNA 和蛋白表达却进一步增加, 这提示激活 PPARα、促进脂肪酸 β 氧化可能是 CMPS 防治 NAFLD 的重要机制。

近年来, 线粒体功能障碍与氧化应激在 NAFLD 发生发展中的作用逐渐引起重视。有报道显示, 在肥胖和 2 型糖尿病的大鼠模型中肝细胞线粒体的含量和功能改变早于 NAFLD 和胰岛素抵抗出现<sup>[13]</sup>。肝内脂质过多时, 脂肪酸 β 氧化加速和电子传递链酶活性增强引发线粒体产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 增多, 从而损害线粒体功能。而线粒体功能障碍又可影响正常氧化磷酸化过程, 使线粒体单电子还原产生的 ROS 进一步增加。肝细胞内的 ROS 可引起脂质过氧化并激活炎症反应, 造成肝细胞的“第二次打击”和进一步损伤<sup>[14]</sup>。本研究发现, CMPS 喂饲可增加肝脏抗氧化酶 SOD 活性, 降低 LPO 含量, 提示 CMPS 有明显的抗氧化功效。

ApoE 主要在肝脏和脑组织合成, 是极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL)、中密度脂蛋白 (intermediate density lipoprotein, IDL) 和高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 中重要的载脂蛋白组分<sup>[15]</sup>。已有大量研究显示, ApoE 不仅具有抗炎和抗氧化特性<sup>[16-18]</sup>, 还可通过激活腺苷酸活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin, AMPK/mTOR) 信号通路介导的肝细胞自噬抑制小鼠 NAFLD 发生<sup>[19]</sup>。与 Schierwagen 等<sup>[20]</sup>的实验结论一致, 本研究采用 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠高脂喂养也快速建立了 NAFLD 动物模型。

随着天然冬虫夏草资源的逐步枯竭,蛹虫草成为其极具潜力的替代品,而 CMPS 是蛹虫草最主要的生物活性成分之一。近年来,药理研究发现蛹虫草多糖具有免疫调节、抗氧化、降血糖等生物活性<sup>[21-22]</sup>。本研究显示,CMPS 对 NAFLD 也具有保护功能。尽管本实验结果为开发 CMPS 作为治疗 NAFLD 的天然药物提供了部分依据,但是全面的药理机制及多糖分子结构解析有待进一步深入研究。

#### [参考文献]

- [1] WONG S W, TING Y W, CHAN W K. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma and its implications [J]. *JGH Open*, 2018, 2(5): 235-241.
- [2] ABDELMALEK M F. Nonalcoholic fatty liver disease: another leap forward [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(2): 85-86.
- [3] CHALASANI N, YOUNOSSI Z, LAVINE J E, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association [J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(7): 1592-1609.
- [4] ORDONEZ R, CARBAJO-PESCADOR S, MAURIZ J L, et al. Understanding nutritional interventions and physical exercise in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Curr Mol Med*, 2015, 15(1): 3-26.
- [5] ZHANG J, WEN C, DUAN Y, et al. Advance in cordycepsmilitaris (Linn) Link polysaccharides: isolation, structure, and bioactivities: a review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 132: 906-914.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] PELLICORI P, VADUGANATHAN M, FERREIRA J P, et al. Cross-talk between non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular disease: implications for future trial design [J]. *Diabetes Metab*, 2021. DOI: 10.1016/j.diabet.2021.101281
- [9] KHAN R S, BRIL F, CUSI K, et al. Modulation of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2019, 70(2): 711-724.
- [10] MARCUS S L, MIYATA K S, ZHANG B, et al. Diverse peroxisome proliferator-activated receptors bind to the peroxisome proliferator-responsive elements of the rat hydratase/dehydrogenase and fatty acyl-CoA oxidase genes but differentially induce expression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90(12): 5723-5727.
- [11] LISS K H, FINCK B N. PPARs and nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Biochimie*, 2017, 136: 65-74.
- [12] CAVE M C, CLAIR H B, HARDESTY J E, et al. Nuclear receptors and nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1859(9): 1083-1099.
- [13] ZHANG N P, LIU X J, XIE L, et al. Impaired mitophagy triggers NLRP3 inflammasome activation during the progression from nonalcoholic fatty liver to nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Lab Invest*, 2019, 99(6): 749-763.
- [14] MANSOURI A, GATTOLLIAT C H, ASSELAH T. Mitochondrial dysfunction and signaling in chronic liver diseases [J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(3): 629-647.
- [15] 李晓轩, 边云飞, 邱龄, 等. 载脂蛋白 E 基因多态性与女性冠心病相关性的 Meta 分析 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(10): 893-898.
- [16] DOSE J, HUEBBE P, NEBEL A, et al. ApoE genotype and stress response—a mini review [J]. *Lipids Health Dis*, 2016, 15: 121.
- [17] DOSE J, NEBEL A, PIEGHOLDT S, et al. Influence of the ApoE genotype on hepatic stress response: studies in ApoE targeted replacement mice and human liver cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 96: 264-272.
- [18] LI K, CHING D, LUK FS, et al. Apolipoprotein E enhances microRNA-146a in monocytes and macrophages to suppress nuclear factor- $\kappa$ B-driven inflammation and atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2015, 117(1): e1-e11.
- [19] LU W, MEI J, YANG J, et al. ApoE deficiency promotes non-alcoholic fatty liver disease in mice via impeding AMPK/mTOR mediated autophagy [J]. *Life Sci*, 2020, 252: 117601.
- [20] SCHIERWAGEN R, MAYBÜCHEN L, ZIMMER S, et al. Seven weeks of Western diet in apolipoprotein-E-deficient mice induce metabolic syndrome and non-alcoholic steatohepatitis with liver fibrosis [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12931.
- [21] CHEN D D, XU R, JY Z, et al. Cordycepsmilitaris polysaccharides exerted protective effects on diabetic nephropathy in mice via regulation of autophagy [J]. *Food Funct*, 2019, 10(8): 5102-5114.
- [22] LEE B H, CHEN C H, HSU Y Y, et al. Polysaccharides obtained from cordycepsmilitaris alleviate hyperglycemia by regulating gut microbiota in mice fed a high-fat/sucrose diet [J]. *Foods*, 2021, 10(8): 1870.

(此文编辑 许雪梅)