

盛丽先经验方清消 I 号对肥胖小鼠血脂及炎症因子的影响

郑月琳, 陈玉燕, 何蓓晖

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2021ZB096)

作者单位:310006 杭州,浙江中医药大学附属第一医院(浙江省中医院)儿科(郑月琳,陈玉燕),第二中心实验室(何蓓晖)

作者简介:郑月琳(1978—),女,医学硕士,主治医师。研究方向:中医药防治小儿肥胖

通信作者:陈玉燕,E-mail:chyuyan@163.com

【摘要】 目的 研究名中医盛丽先教授经验方清消 I 号对高脂饮食诱导的肥胖小鼠血脂及炎症因子的影响。**方法** 将 32 只 C57BL/6J 小鼠,随机分为对照组,模型组,中药低、高剂量组 4 组,每组 8 只。模型组给予高脂饮食 8 周,建立肥胖小鼠模型。于第 9 周起给药干预,对照组、模型组给予等剂量生理盐水灌胃,中药低、高剂量组分别灌胃 5.04、10.08 mg/(g·d)清消 I 号水煎剂,共干预 8 周。16 周末,各组小鼠同时测定 Lee's 指数,分离腹腔脂肪,苏木精-伊红染色观察病理。生化法测定血清胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白的含量,酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)的表达水平。**结果** 模型组小鼠的体质量、肝脏湿质量、内脏脂肪质量以及 Lee's 指数与对照组相比,均有显著增加;血清胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白含量显著增高,高密度脂蛋白含量显著降低,血清 TNF- α 及 IL-6 水平升高($P < 0.05$)。经清消 I 号治疗后,与模型组比较,小鼠体质量、肝脏湿质量、内脏脂肪质量以及 Lee's 指数均明显减低;血清胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白含量明显降低,高密度脂蛋白含量升高。血清 TNF- α 及 IL-6 水平降低($P < 0.05$)。**结论** 清消 I 号对高脂饮食引起的肥胖小鼠有良好的治疗作用,可能是通过降低血清炎症因子 TNF- α 及 IL-6 的表达水平,调节血脂,从而改善肝脏病理,减轻体质量。

【关键词】 肥胖; 清消 I 号; 肿瘤坏死因子 α ; 血脂; 高脂饮食; 小鼠

doi:10.3969/j.issn.1674-3865.2024.03.005

【中图分类号】 R725.8 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3865(2024)03-0206-05

Effect of Sheng Lixian's empirical formula Qingxiao I on blood lipids and inflammatory factors in obese mice
ZHENG Yuelin, CHEN Yuyan, HE Beihui. Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University (Zhejiang Provincial Hospital of Chinese Medicine), Hangzhou 310006, China

【Abstract】 Objective To study the effect of Professor Sheng Lixian's empirical formula Qingxiao I on blood lipids and inflammatory factors and the related mechanisms in an obese mouse model induced by a high-fat diet. **Methods** A total of 32 C57BL/6J mice were randomly divided into a control group, a model group, and a low-dose and a high-dose group of Qingxiao I, with 8 mice in each group. The model group was given a high-fat diet for 8 weeks to establish an obese mouse model. Starting from the 9th week, medication intervention was administered. The control group and model group were given equal doses of normal saline by gavage, while the low-dose and high-dose groups of Qingxiao I were given 5.04 mg/(g·d) and 10.08 mg/(g·d) Qingxiao I decoction by gavage, respectively. The intervention lasted for a total of 8 weeks. At the end of the 16th week, the Lee's index was measured simultaneously in each group of mice, abdominal fat was separated, and HE staining was performed to observe the pathology. Biochemical method was used to measure the levels of serum CHOL, TG, HDL-C, LDL-C, and ELISA method was used to detect serum TNF- α and IL-6 levels. **Results** Compared with the control group, the model group mice showed significant increase in body mass, liver wet mass, Lee's index, and visceral fat mass; serum CHOL, TG, and LDL-C levels were significantly

increased, while HDL-C levels were significantly reduced; the levels of TNF- α and IL-6 increased. Compared with the model group, the body mass, liver wet mass, Lee's index, and visceral fat mass of mice after the treatment with Qingxiao I significantly decreased; serum CHOL, TG, and LDL-C levels significantly decreased, while HDL-C levels significantly increased; TNF- α and IL-6 levels decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Qingxiao I can reduce serum TNF- α and IL-6 levels and regulate blood lipids, improve liver pathology, and reduce body mass, and thus have a good therapeutic effect on obese mice caused by a high-fat diet.

【Keywords】 Obesity; Qingxiao I; TNF- α ; Blood lipids; High fat diet; Mice

单纯性肥胖不仅仅是一个独立的疾病,同时也是促进多种慢性疾病如 2 型糖尿病、心血管疾病、骨关节炎以及性早熟等发生发展的关键危险因素之一^[1-2]。在过去的 30 年里,中国学龄儿童的超重肥胖率上升了 4~6 倍,其中尤以经济发达地区的青少年儿童更为明显^[3]。

目前,临床上尚缺乏对儿童单纯性肥胖有效且安全的治疗手段。主要采取的是外科减肥手术以及减肥药物等治疗措施,而儿童机体处于发育阶段,减肥药物及手术治疗不宜应用,鉴于当前正常儿童已较普遍地暴露肥胖风险,如何选取合适的治疗手段进行干预以拮抗肥胖,保护儿童免受不良影响是当前研究的热点。

全国名老中医盛丽先教授总结归纳了一套以中医中药为主的治疗方案,拟定了经验方清消 I 号。本研究将通过高脂饮食建立肥胖小鼠模型并用清消 I 号干预,探究对肥胖小鼠体质量、血脂、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6) 的影响,探讨清消 I 号的作用机制,进一步深入揭示名中医经验方的治疗优势,为该方的临床应用提供基础研究依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

C57BL/6J 雄性小鼠 32 只,6 周龄,体质量 16~18 g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号 SCXK(沪)2018-0016。动物饲养于浙江中医药大学实验动物中心。

本研究获得浙江中医药大学动物伦理委员会批准(批号:20220307-24)。

1.2 实验药物

清消 I 号由制半夏、茯苓、荷叶、黄芪各 9 g,陈皮 5 g,甘草 3 g,石菖蒲、绞股蓝各 6 g 组成,中药材饮片由浙江省中医院中药房提供并负责煎煮,水煎液药物浓度为 1.0 g/mL。C57BL/6J 小鼠的用药浓度根据人/鼠换算公式,鼠的剂量=[人的临床剂量(mg/kg) \times 70 kg \times 0.018]/200 g 得出。高剂量组鼠灌服浓度 10.08 mg/g,低剂量组 5.04 mg/g,对

照组及模型组灌服等剂量生理盐水。

1.3 实验仪器和试剂

高脂模型饲料(型号 TP23300,脂肪含量 60%),低脂对照饲料(型号 TP23302,脂肪含量 10%) (南通特洛菲饲料科技有限公司),小鼠酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒,血清 TNF- α (货号 ELK1387)和 IL-6(货号:ELK1157) (武汉科鹿生物科技有限公司)。

1.4 肥胖小鼠模型的建立及实验分组

将 32 只雄性 6 周龄小鼠,按随机数字表法分为对照组、模型组、中药低剂量组、中药高剂量组 4 组,每组 8 只。除对照组给予低脂对照饲料外,余 3 组给予高脂饲料 8 周,建立肥胖小鼠模型。第 9 周开始给药干预,中药低、高剂量组分别灌胃清消 I 号水煎剂 5.04、10.08 mg/(g \cdot d),对照组和模型组给予等剂量生理盐水,共干预 8 周。16 周末,处理动物。并称取肝脏湿质量及肾周、肠系膜、附睾脂肪的质量。

1.5 Lee's 指数和肝脏指数的计算

16 周末,禁食不禁水 12 h,测量各组小鼠体质量及体长(从鼻至肛门处),并按公式计算 Lee's 指数。肝脏指数=肝脏质量/体质量 \times 100%。

$$\text{Lee's 指数} = \frac{\sqrt[3]{\text{体质量}(\text{g}) \times 1000}}{\text{体长}(\text{cm})}$$

1.6 血清脂质水平和炎症因子水平的检测

根据试剂盒说明,测定各组小鼠血清中胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白的水平。用 ELISA 试剂盒检测各组小鼠血清中 TNF- α 、IL-6 的水平。

1.7 小鼠肝脏病理切片及形态学分析

苏木精-伊红染色:小鼠肝脏取出后,切成约 1 cm \times 1 cm \times 1 cm 小块,立即投入 4% 中性甲醛中固定,经脱水、包埋、制片、染色后,在光学显微镜下观察并拍照。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;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 清消 I 号对肥胖小鼠体质量、Lee's 指数、肝脏指数的影响

见表 1。

表 1 清消 I 号对肥胖小鼠体质量、Lee's 指数、肝脏指数的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 体质量(g) | Lee's 指数 | 肝脏指数(%) |
|--------|---|--------------------------|------------------------|------------------------|
| 对照组 | 8 | 29.11±1.15 | 3.29±0.04 | 3.36±0.13 |
| 模型组 | 8 | 35.18±1.63 ^a | 3.42±0.07 ^a | 3.73±0.37 ^a |
| 中药低剂量组 | 8 | 33.15±1.58 ^a | 3.39±0.04 ^a | 3.50±0.18 |
| 中药高剂量组 | 8 | 32.14±2.21 ^{ab} | 3.33±0.08 ^b | 3.34±0.30 ^b |
| F | | 18.010 | 7.559 | 3.741 |
| P | | <0.001 | <0.001 | 0.022 |

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

表 1 可见,与对照组相比,模型组小鼠的体质量、Lee's 指数及肝脏指数显著增加($P < 0.05$);与模型组相比,清消 I 号高剂量组的小鼠体质量、Lee's 指数及肝脏指数均显著下降($P < 0.05$);清消 I 号低剂量组小鼠的上述指标均下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果显示,清消 I 号可以降低高脂引起的肥胖小鼠的体质量、Lee's 指数,且清消 I 号高剂量比低剂量作用显著,说明清消 I 号对高脂诱导的肥胖具有较好的改善作用。

2.2 清消 I 号对肥胖小鼠肝脏湿质量、肾周、肠系膜、附睾脂肪质量的影响

与对照组比较,模型组小鼠肝脏湿质量、脂肪质量都明显增高($P < 0.05$);与模型组比较,中药高剂量组小鼠肝脏湿质量、脂肪质量均明显下降($P < 0.05$),中药低剂量组小鼠肝脏湿质量明显下降($P < 0.05$),其余指标下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 清消 I 号对肥胖小鼠肝脏湿质量和脂肪质量的影响($\bar{x} \pm s, g$)

| 组别 | n | 肝脏湿质量 | 脂肪质量 | | |
|--------|---|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | | | 肾周 | 肠系膜 | 附睾 |
| 对照组 | 8 | 0.98±0.05 | 0.13±0.09 | 0.14±0.08 | 0.48±0.20 |
| 模型组 | 8 | 1.31±0.13 ^a | 0.31±0.11 ^a | 0.34±0.11 ^a | 1.14±0.42 ^a |
| 中药低剂量组 | 8 | 1.16±0.10 ^{ab} | 0.27±0.17 | 0.24±0.18 | 0.90±0.41 |
| 中药高剂量组 | 8 | 1.07±0.04 ^b | 0.17±0.11 ^b | 0.18±0.14 ^b | 0.75±0.22 ^b |
| F | | 20.440 | 3.695 | 3.435 | 5.649 |
| P | | <0.001 | 0.023 | 0.030 | 0.004 |

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 清消 I 号对肥胖小鼠肝脏病理的影响

结果显示,对照组的肝细胞形态大小正常,肝核清晰可见;模型组肝细胞脂肪变性,可见大量的空泡和脂滴,并呈聚集状;中药低剂量组脂滴数量明显减少,肝细胞形态趋于正常;中药高剂量组,脂肪空泡基本不可见,肝细胞体积和大小更接近正常。提示清消 I 号能有效改善肥胖小鼠肝脏病理。见图 1(封三)。

2.4 清消 I 号对肥胖小鼠血清生化脂质的影响

与对照组比较,模型组血脂胆固醇、甘油三酯、

低密度脂蛋白显著升高($P < 0.05$);高密度脂蛋白显著降低($P < 0.05$)。经清消 I 号治疗后,与模型组相比,中药低剂量组胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白降低,高密度脂蛋白升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$);中药高剂量组胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白降低($P < 0.05$),高密度脂蛋白升高,但差异不显著($P > 0.05$),见图 3。提示清消 I 号对高脂饮食造成的肥胖小鼠的血脂有一定的改善作用。见表 3。

表 3 清消 I 号对肥胖小鼠血清生化脂质的影响($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

| 组别 | n | 胆固醇 | 甘油三酯 | 高密度脂蛋白 | 低密度脂蛋白 |
|--------|---|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| 对照组 | 8 | 2.41±0.24 | 1.07±0.27 | 1.64±0.10 | 0.27±0.05 |
| 模型组 | 8 | 4.02±0.53 ^a | 1.30±0.12 ^a | 1.43±0.15 ^a | 0.48±0.08 ^a |
| 中药低剂量组 | 8 | 3.60±0.42 ^a | 1.28±0.14 | 1.54±0.16 | 0.44±0.05 ^a |
| 中药高剂量组 | 8 | 3.28±0.52 ^{ab} | 1.10±0.20 ^b | 1.59±0.18 | 0.39±0.07 ^{ab} |
| F | | 18.990 | 3.099 | 2.758 | 16.290 |
| P | | <0.001 | 0.043 | 0.048 | <0.001 |

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.5 清消 I 号对肥胖小鼠血清炎症因子水平的影响

与对照组相比,模型组 TNF- α 及 IL-6 水平显著升高($P < 0.05$)。经清消 I 号治疗后,与模型组相比,中药低、高剂量组 TNF- α 及 IL-6 水平降低($P < 0.05$)。提示清消 I 号对高脂饮食造成的肥胖小鼠的炎症因子有一定的改善作用。见表 4。

表 4 清消 I 号对肥胖小鼠血清炎症因子水平的影响($\bar{x} \pm s$, ng/L)

| 组别 | n | TNF- α | IL-6 |
|--------|---|-------------------------------|-------------------------------|
| 对照组 | 8 | 18.89 \pm 1.96 | 17.97 \pm 7.00 |
| 模型组 | 8 | 27.33 \pm 7.34 ^a | 32.94 \pm 8.39 ^a |
| 中药低剂量组 | 8 | 20.83 \pm 2.33 ^b | 22.03 \pm 3.49 ^b |
| 中药高剂量组 | 8 | 18.93 \pm 2.85 ^b | 21.25 \pm 4.40 ^b |
| F | | 7.167 | 8.967 |
| P | | 0.001 | <0.001 |

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

3 讨论

临床实践证明,中医药治疗儿童单纯性肥胖有不错的效果且副作用较少^[4-5]。儿科名老中医盛丽先教授,是全国第五批老中医药专家学术经验继承工作指导老师、浙江省名中医。国家中医药管理局于 2014 年批建成立“盛丽先全国名老中医药专家传承工作室”。盛教授带领的工作室团队近 10 年来对儿童肥胖的中医病因病机、中医治疗时机等进行了深入系统的研究,并总结了一套以中医中药为主的治疗方案,在临床上取得了显著疗效^[6-7]。《丹溪心法》中提到“肥人多是湿痰”、“肥白之人,沉困怠惰,是气虚”,《张聿青医案》中记载“体丰者多湿多痰”,虞抟的《医学正传》也指出“肥人大概是气虚挟痰”^[8]。结合各代医家文献及临床观察^[9-10],肥胖儿童多表现为形体偏肥胖,肢体困重,胸闷叹息,多食肥甘,口中黏腻,舌质淡、苔白或白腻,脉细滑,其病机为“气虚”“痰湿”,所以我们总结气虚痰湿是临床肥胖的常见证型,儿童本证的发生与中焦最相关。气虚指的是脾气亏虚,脾失健运则气血运化失常,从而导致痰浊水湿,积聚于体内,加之患儿嗜食膏粱厚味、久坐少动、外感湿邪等内因外因的共同影响,致痰湿内蕴,日积月累则变为膏脂,形成肥胖。基于此,盛教授拟定了经验方清消 I 号。清消 I 号方主要药物为制半夏、陈皮、茯苓、甘草、荷叶、黄芪、绞股蓝、石菖蒲。方中黄芪益气培元;绞股蓝补气养阴;二陈汤(制半夏、陈皮、茯苓、甘草)健脾化痰;荷叶化痰降浊;石菖蒲宣化醒脾;全方化痰利湿,益气健脾。现代药理研究表明,荷叶富含的黄酮类物质、生物碱

等可明显抑制肥胖大鼠体质量增加和降低血清甘油三酯、胆固醇等,起到降脂减肥的作用^[11]。陈皮富含多甲氨基黄酮类成分可显著降低血清甘油三酯、胆固醇水平,改善脂质代谢,预防肥胖^[12]。绞股蓝中的主要成分绞股蓝皂苷,具有降血脂、降胆固醇的作用^[13]。制半夏中存在多种亲脂性成分,能够阻止或延缓甘油三酯、低密度脂蛋白的增高,说明半夏可能具有预防高脂血症的作用^[14]。

本研究通过对临床运用有效的名中医经验方清消 I 号干预高脂喂养 C57BL/6J 小鼠,证实清消 I 号治疗后小鼠体质量、Lee's 指数和内脏脂肪质量均显著降低,血清胆固醇、低密度脂蛋白、甘油三酯水平明显下降,高密度脂蛋白水平明显升高。体质量、Lee's 指数和内脏脂肪质量是反映肥胖的直观指标,血脂异常是肥胖的主要特征之一,常表现为血清胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白水平上升,而高密度脂蛋白水平下降^[15]。说明清消 I 号有抑制肥胖的效果并且可以调节血脂水平。同时,用药后血清 IL-6 及 TNF- α 水平降低。肥胖与慢性炎症密切相关,肥胖患者血清中的 IL-6、TNF- α 等炎症因子的水平过度升高,降低炎症已成为治疗和预防肥胖的新靶点^[16]。肥胖人群常伴有不同程度的胰岛素抵抗,其促进糖耐量的恶化,并使机体进一步增重^[17]。同时高水平的 TNF- α 在胰岛素抵抗的形成中也起着促进作用^[18],清消 I 号通过降低 TNF- α 、IL-6 减轻脂肪蓄积,而达到治疗肥胖的作用。

4 结论

清消 I 号可以通过降低 TNF- α 、IL-6 血清值,降低血脂,改善肝脏病理,减轻体质量,从而对高脂饮食引起的肥胖有较好的治疗作用。

参考文献

- [1] Jebeile H, Kelly AS, O'Malley G, et al. Obesity in children and adolescents: epidemiology, causes, assessment, and management [J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2022, 10(5): 351-365.
- [2] Shi Q, Wang Y, Hao Q, et al. Pharmacotherapy for adults with overweight and obesity: a systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials [J]. Lancet, 2022, 399(10321): 259-269.
- [3] 和婧伟, 裴舟, 钱甜, 等. 中国儿童单纯性肥胖症临床诊治中西医结合专家共识 [J]. 中国中西医结合儿科学, 2023, 15(1): 1-7.
- [4] 闫文月, 刘艳红, 于身存, 等. 泻黄散加减治疗肥胖儿童胰岛素抵抗 [J]. 中医药导报, 2021, 27(12): 158-161.
- [5] 徐蕾, 范奕曼. 中医药治疗儿童单纯性肥胖的研究进展 [J]. 泰州职业技术学院学报, 2022, 22(6): 66-68.
- [6] 盛丽先, 王海云, 王其莉, 等. 盛丽先儿科临证经验 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2017: 107.