

小檗碱对地塞米松所致 C57 小鼠糖脂代谢紊乱的改善作用

马晓蕾¹, 蒋卫², 樊伟明², 傅小峰², 王璐璐^{1*}, 蒋建东¹

(1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050; 2. 浙江省震元制药研究院, 浙江 绍兴 312071)

摘要: 本文旨在探讨小檗碱 (berberine, BBR) 对地塞米松 (dexamethasone, Dex) 引起的糖脂代谢紊乱的改善作用及其机制。采用 Dex 诱导 3T3-L1 前脂肪细胞分化, 给予 BBR (2.5、5 和 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理, 油红 O 染色检测细胞脂质沉积。动物实验方案由中国医学科学院药物研究所伦理委员会审核并批准。雄性 C57BL/6N 小鼠随机分为 3 组, BBR 治疗组小鼠皮下植入 Dex 渗透泵, 同时灌胃给予 BBR (100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$) 治疗 4 周; 模型组同期植入 Dex 渗透泵; 对照组植入内容为生理盐水的渗透泵。每周测量小鼠食物摄入量和体重。小动物核磁成像检测小鼠皮下脂肪及内脏脂肪含量。实验结束时测定小鼠血浆中总胆固醇 (cholesterol, CHO)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-c)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-c) 和葡萄糖 (glucose, Glu) 水平。检测小鼠肌肉质量。采用 RT-PCR 和 Western blot 技术检测过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 和腺苷酸活化蛋白激酶 α (AMP-activated protein kinase α , AMPK α) 在 3T3-L1 细胞及小鼠附睾脂肪组织中的表达。实验结果表明, BBR 可剂量依赖性抑制 Dex 诱导的 3T3-L1 前脂肪细胞分化, 抑制率分别为 11.5%、16.6% 和 22.5%。在 C57BL/6N 小鼠中, 小檗碱能减轻 Dex 引起的高脂血症和高血糖, 减少小鼠内脏脂肪堆积。RT-PCR 和 Western blot 分析结果显示, BBR 可降低 3T3-L1 细胞和小鼠脂肪组织中 PPAR γ 的表达, 促进 AMPK α 的磷酸化。综上所述, BBR 可通过调节 PPAR γ 和 AMPK 减轻 Dex 诱导的代谢紊乱。

关键词: 小檗碱; 地塞米松; 糖皮质激素; 代谢紊乱; 高脂血症; 高血糖

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2020)11-2636-06

Berberine ameliorates dexamethasone-induced metabolic disorder in C57 mice

MA Xiao-lei¹, JIANG Wei², FAN Wei-ming², FU Xiao-feng², WANG Lu-lu^{1*}, JIANG Jian-dong¹

(1. Institute of Materia Medica, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China; 2. Zhejiang Zhenyuan Pharmaceutical Research Institute, Shaoxing 312071, China)

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effects and mechanisms of berberine (BBR) against dexamethasone (Dex)-induced metabolic disorders. 3T3-L1 cells were differentiated by Dex treatment and then treated with BBR (2.5, 5, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Lipid accumulation was detected using oil-red O staining. After review and approval of the ethics committee of the Institute of Materia Medica, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, C57BL/6N mice were randomly divided into three groups. In the BBR treatment group, mice were subcutaneously implanted with an osmotic pump containing Dex and gavaged with BBR (100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$) for 4 weeks. The model control group was implanted with a Dex osmotic pump with no other treatment. Mice given a saline-filled osmotic pump were used as a negative control. During the study, food intake and body weight were measured weekly. Subcutaneous fat and visceral fat was detected by MRI. At the end of the experiment the

收稿日期: 2020-06-14; 修回日期: 2020-09-05.

基金项目: 中国医学科学院创新工程重大项目 (2016-I2M-1-011).

*通讯作者 Tel: 86-10-63017906, E-mail: wanglulu@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-0168

plasma levels of total cholesterol (CHO), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), glucose (Glu), and muscle mass were measured. The expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) and AMP-activated protein kinase α (AMPK α) in 3T3-L1 cells and epididymal fat of C57BL/6N mice was evaluated through RT-PCR and Western blot analysis. The results showed that BBR inhibited Dex-induced adipocyte differentiation in 3T3-L1 preadipocytes by up to 23% in a dose-dependent manner. In C57BL/6N mice, berberine alleviated hyperlipidemia and hyperglycemia and reduced visceral fat accumulation induced by Dex. The results from RT-PCR and Western blot analysis showed that BBR reduced PPAR γ expression and increased the phosphorylation of AMPK α in 3T3-L1 cells as well as in adipose tissue. Berberine might alleviate Dex-induced metabolic disorder and visceral fat accumulation by modulating PPAR γ and AMPK expression.

Key words: berberine; dexamethasone; glucocorticoid; metabolic disorder; hyperlipidemia; hyperglycemia

地塞米松 (dexamethasone, Dex) 等糖皮质激素具有抗炎、抗过敏、抗休克及非特异性免疫抑制等多种作用,临床上主要用于治疗过敏性及自身免疫性疾病。当长期或大剂量使用时,往往会引起肌肉萎缩^[1]、高血糖、高血脂^[2,3]和向心性肥胖^[4,5]等不良反应,对患者的身体产生不良影响,目前尚无有效的治疗方法,因此,研究开发可缓解激素引起的代谢紊乱等不良反应的药物具有重要的意义。小檗碱 (berberine, BBR) 是黄柏、黄连、刺楸和印度小檗等植物中的主要成分,属于原小檗碱类的苜基异喹啉季铵生物碱^[6],具有广泛的药理活性,如降糖、降脂^[7]、抗微生物^[8]和抗肿瘤等。本实验采用动物及细胞实验,探讨 BBR 对地塞米松引起的代谢紊乱及内脏脂肪堆积的治疗作用及相关机制。

材料与方法

主要试剂 BBR (南京泽朗生物科技有限公司);生理盐水 (四川科伦药业股份有限公司);地塞米松磷酸钠 (MedChemExpress 公司);胰岛素 (Tocris);3-异丁基-1-甲基黄嘌呤 (3-isobutyl-1-methylxanthine, IBMX)、油红染料 (Sigma 公司);动物用抗生素头孢呋辛钠 (国药集团致君制药有限公司);RNA 提取试剂盒 (Invitrogen 公司);qRT-PCR 试剂盒 (Applied Biosystems 公司);小鼠来源的 GAPDH 抗体和 AMPK α 抗体、辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的驴抗兔二抗、HRP 标记的山羊抗小鼠二抗 (Proteintech 公司);兔源 p-AMPK α 抗体 (Immunoway 公司);兔源 PPAR γ 抗体 (Cell Signaling Technology 公司)。

实验用仪器 低温冷冻台式离心机 (ST16R)、微量分光光度计 (Nanodrop2000c) (美国 Thermo 公司);生物安全柜 (NV-437-400S, 美国 NUAIRE 公司);低温冰箱 (MDF-U53V, 日本松下公司);实时定量 PCR 仪 (ABI 7500FAST, 美国 Applied Biosystems 公司);凝胶成像系统 (美国 Bio-rad 公司);MRI 测试设备 (美国 AGILENT 公司);组织破碎仪 (武汉谷歌生物有限公

司);7100 全自动生化分析仪 (日本日立公司)。

实验动物 C57 BL/6N 雄性小鼠 18 只,6 周龄,初始体质量 20~22 g,北京维通利华实验动物技术有限公司购入 [SCXK (京) 2016-0006]。动物实验方案由中国医学科学院药物研究所伦理委员会审核并批准 (审批编号 00005965)。

实验用细胞 小鼠前脂肪细胞 3T3-L1 购自中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心。

小鼠前脂肪细胞 3T3-L1 分化诱导 小鼠前脂肪细胞 3T3-L1 用含有 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 DMEM 高糖培养基培养于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度恒温培养箱内,当细胞融合度达到 70%~80% 时,采用含有 0.02% EDTA 的胰酶消化传代。以细胞数为每毫升 4×10⁴ 个的细胞悬液置于 6 孔板中培养,设空白对照组 (DMEM)、溶剂对照组 (Con)、模型组 (Dex) 和给药组 (2.5、5 和 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BBR)。待细胞长满并接触抑制 2 天,分化孔由分化诱导液 [90% DMEM、10% FBS、1.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Dex、0.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ IBMX (溶剂为 DMSO)、1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 胰岛素 (溶剂为 pH = 3 的盐酸水溶液)] 培养 2 天后,用分化维持液 [90% DMEM、10% FBS、1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 胰岛素 (溶剂为 pH = 3 的盐酸水溶液)] 维持培养 7~15 天,分化孔每次换液时,空白对照孔换新鲜培养基,溶剂对照组换含有与分化孔所用溶液等量溶剂的培养基。在细胞分化末期使用含有 2.5、5 和 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BBR 的完全培养基培养 24 h。

油红染色及定量 使用双蒸水配置 60% 油红染料,过滤得到澄清的油红染液。加药处理后的 6 孔板弃培养基, PBS 清洗 2 次,使用 4% 多聚甲醛固定 15 min,固定结束后 PBS 清洗 1 遍,每孔加入油红染液 1.2 mL,避光染色 15 min, PBS 清洗数次,显微镜观察并拍照。

分别向油红染色后的各培养孔内加入异丙醇 500 μL , 摇匀使染料重新溶解在异丙醇内,收集异丙醇溶液于 1.5 mL 离心管内, 800 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 吸取

上清液 100 μL 加入 96 孔板, 置于酶标仪中, 在 490 nm 波长下测定各孔 OD 值, 每组设置 3 个平行孔, 以异丙醇孔调零, 对油红染色结果进行定量分析。

动物实验分组及模型的建立 C57BL/6N 小鼠随机分为对照组 (Con)、模型组 (Dex) 及 BBR 组, 每组 6 只, 给予正常维持饲料。小鼠适应性饲养 1 周后皮下植入渗透泵 (2004 型号, $0.25 \mu\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$, 可维持 4 周, 购自美国 Alzet 公司), 对照组渗透泵内容物为生理盐水, 模型组及小檗碱组渗透泵内容物为 Dex 磷酸二钠溶液 ($1.4 \mu\text{g}\cdot\text{day}^{-1}$), 手术后连续 3 天注射头孢唑啉钠抗生素, BBR 组小鼠以 $100 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$ 灌胃, 连续灌胃 4 周。每周测量小鼠体重及摄食量。

小动物核磁成像 给药结束后取出渗透泵, 隔日待小鼠状态恢复后通过小动物核磁成像进行体脂检测。具体步骤如下: ① 异氟烷麻醉, 固定于线圈上, 头先进, 定位于腹部中心; ② 自旋回波序列 (SE) 行 T1 加权像, TR = 500 ms, TE = 6.1 ms, 层厚 1 mm, 矩阵 256×256 , FOV $50 \text{mm}\times 100 \text{mm}$, 平均值 = 8。使用 Siemens Inveon Workplace 软件进行图像处理。

血生化指标检测 采用日立 7100 全自动生化分析仪, 测定小鼠血清样本中总胆固醇 (cholesterol, CHO)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-c)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-c) 和葡萄糖 (glucose, Glu) 水平。具体过程如下: 按说明书向生化非定值质控品冻干粉中加入相应体积的纯水, 平衡 40 min; 仪器自检后测定各项生化非定值质控品, 测定结果均在测定范围内后检测小鼠血浆样品。

AMPK α 及 PPAR γ 的 mRNA 表达检测 取药物处理后的脂肪细胞 6 孔板, 弃培养基, PBS 洗去残留液体, 每孔加入 Trizol 1 mL, 按 Invitrogen 试剂盒说明书提取总 RNA, 使用 Nanodrop 2000C 测定 RNA 的浓度, 均一上样量。PCR 扩增: PCR 总反应体系 20 μL , 含 RNA 模板 5 μL 、Master Mix 10 μL 、RT Enzyme Mix 0.16 μL 、DEPC H₂O 4.34 μL 、引物 0.5 μL 。PCR 反应条件: 48 $^{\circ}\text{C}$ 30 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 40 个循环。每个 qPCR 重复 2 次, 以 GAPDH 作为内参基因, 目的基因的相对表达量通过公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算。AMPK α mRNA 引物: 正向 5'-GTTTCAGGCACCCTCA CATCA-3', 反向 5'-CAAGCAGGACGTTCTCAGGT-3'; PPAR γ mRNA 引物: 正向 5'-CCAGCTCTACAACAGG CCTC-3', 反向 5'-GTGAGACATCCCCACAGCAA-3'; GAPDH mRNA 引物: 正向 5'-CTCCACTCTTCCAC CTTCG-3', 反向 5'-TAGGGCCTCTCTTGCTCAGT-3'。

称取小鼠附睾脂肪约 100 mg, 加入 500 μL Trizol

及组织破碎珠, 使用组织破碎仪 70 Hz 条件破碎 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 $12\ 000 \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清, 其后 RNA 提取及 Real-time PCR 实验步骤与细胞中 AMPK α 及 PPAR γ 的 mRNA 表达的测定相同。

AMPK α 、p-AMPK α 及 PPAR γ 的蛋白表达 取分别由 2.5、5 和 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度 BBR 处理后的脂肪细胞, 弃去培养基, PBS 清洗 2 次, 加入细胞裂解液提取细胞总蛋白, 并用 BCA 法测定蛋白浓度, 制备相同上样量的蛋白样品, 利用 SDS-PAGE 胶点样后电泳。100 V 下将电泳条带转至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温下封闭 3 h, 加入 p-AMPK α 、AMPK α 及 PPAR γ 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 洗膜后加 HRP 标记的二抗室温孵育 2 h, 洗膜后曝光, 使用 Image Lab 软件对结果进行分析处理。

称取小鼠附睾脂肪约 200 mg, 加入 200 μL 组织蛋白裂解液及组织破碎珠, 使用组织破碎仪 70 Hz 条件破碎 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 $12\ 000 \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min, 取上清, BCA 法测定蛋白浓度, 其余步骤与细胞中 p-AMPK α 、AMPK α 及 PPAR γ 蛋白表达检测相同。

统计学分析 数据采用 GraphPad Prism6 统计软件进行统计分析及作图, 显著性差异比较采用 *t* 检验法进行, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结果

1 BBR 对小鼠前脂肪细胞分化的影响

油红染色结果 (图 1) 显示, 处于分化末期的前脂肪细胞胞内脂滴生成增多, 随着加入 BBR 浓度的增加, 油红上色区域减少, 且量化值不断降低。结果表明, BBR 可剂量依赖性地抑制小鼠前脂肪细胞向成熟的脂肪细胞分化, 减少脂肪组织的产生。

2 小鼠体重变化

由图 2 可知, 给予 Dex 的模型组小鼠体重显著低于对照组小鼠 ($P < 0.05$); BBR 组小鼠体重与模型组无显著差异。各组小鼠饲料消耗量无明显差异。

3 小鼠肌肉变化及核磁成像

为了确定模型建立是否成功, 本研究以比目鱼肌重与胫骨长度之比作为肌肉萎缩的指标, 结果可见, 模型组比值较对照组显著降低 (图 3A、B), 即 C57BL/6N 小鼠在长期接受 Dex 作用后, 出现了肌肉萎缩, 符合糖皮质激素长期刺激时产生的生理变化, 而 BBR 则可缓解糖皮质激素类对肌肉分解的不良反应。

通过小动物核磁技术对小鼠体内脂肪进行成像。模型组在激素连续作用 4 周后, 成像显示该组小鼠内脏脂肪堆积与对照组相比明显增多, 皮下脂肪无显著性变化, BBR 灌胃后内脏脂肪含量降低约 33.3%, 体脂

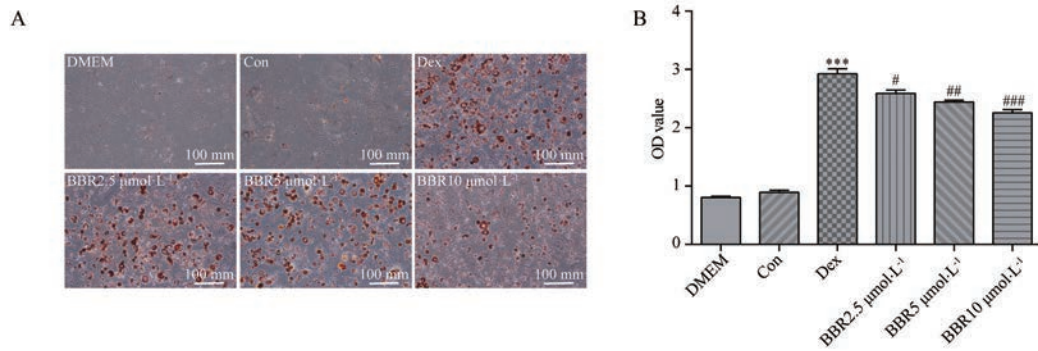


Figure 1 Representative image (A) and quantitative analysis (B) of oil red staining. 3T3-L1 cells are treated with 2.5, 5, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ berberine (BBR), respectively for 24 h following differentiated with dexamethasone (Dex). Cells untreated (DMEM), treated with solvent (Con) and differentiated with dexamethasone (Dex) are used as control. $n = 3$, mean \pm SEM. *** $P < 0.001$ vs Con; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ vs Dex

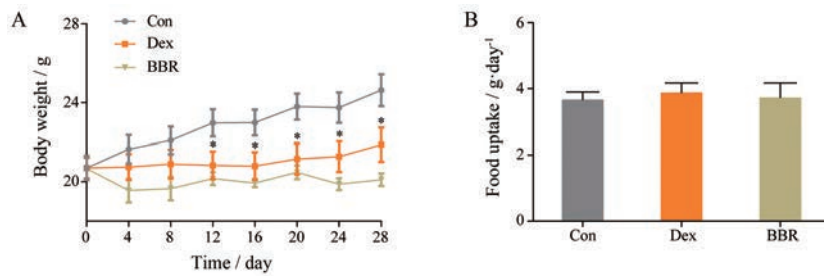


Figure 2 Body weight (A) and food uptake analysis (B). C57BL/6N mice are implanted with Dex osmotic pump and treated with BBR by gavage ($100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$) for four weeks. Dex-treated mice are used as model control (Dex), while mice implanted with saline contained osmotic pump are used as negative control (Con). $n = 3$, mean \pm SEM. * $P < 0.05$ vs Con

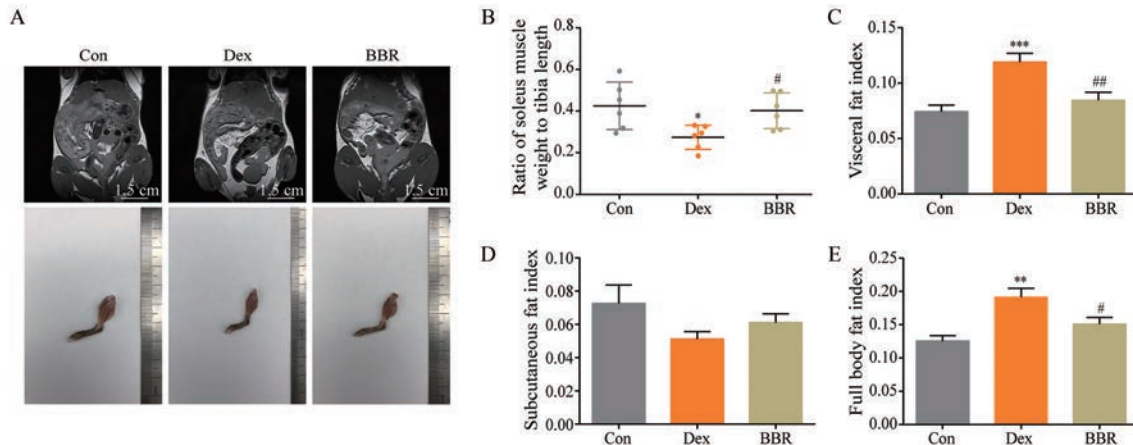


Figure 3 BBR modulated fat accumulation and muscle properties in Dex treated C57BL/6N mice. A, up: Representative MRI images tested using Pharma Scan 70/16 US small animal MRI (Bruker, Germany); A, down: Representative images of muscle atrophy; B: Ratio of soleus muscle weight to tibia length; C: Visceral fat index; D: Subcutaneous fat index; E: Full body fat index. $n = 6$, mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Con; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Dex

率下降 (图 3A、C~E)。

4 小檗碱改善小鼠糖脂代谢水平

由图 4 可知, 模型组小鼠血液中 TG、CHO、LDL-c 含量及血糖水平显著高于对照组小鼠, 而 HDL-c 含量与对照组小鼠相比显著降低, BBR 灌胃治疗后可改善

上述指标, 显著降低高脂血症, 增加 HDL-c 水平。

5 小檗碱调节 3T3-L1 细胞及小鼠脂肪组织 AMPK α 及 PPAR γ 基因的表达

Real-time PCR 结果 (图 5) 显示, 与对照组相比, 模型组 3T3-L1 细胞中 PPAR γ 表达量显著升高而 AMPK α

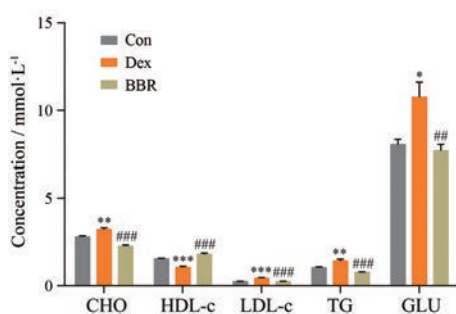


Figure 4 BBR modulated plasma lipid and glucose levels disturbed by Dex. Plasma cholesterol (CHO), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c), triglyceride (TG), and glucose (GLU) levels are measured with enzymatic methods using an automatic biochemical analyzer. $n = 6$, mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Con by unpaired t test; ### $P < 0.01$, #### $P < 0.001$ vs Dex

表达量显著降低, BBR 可剂量依赖性增加 3T3-L1 细胞 AMPK α 表达并降低 PPAR γ 表达。体内实验结果显示, Dex 可增加小鼠脂肪组织 PPAR γ 表达并降低 AMPK α 表达, 与模型组相比, BBR 可显著增加小鼠脂肪组织 AMPK α 表达, 降低 PPAR γ 表达水平。

6 小檗碱调节 3T3-L1 细胞及小鼠脂肪组织 AMPK α 、p-AMPK α 及 PPAR γ 蛋白的表达

Western blot 实验结果显示, Dex 对小鼠前脂肪细胞及小鼠附睾脂肪组织中 AMPK α 活化具有一定的抑制作用, 同时使 PPAR γ 表达升高。BBR 可促进模型组 3T3-L1 细胞及模型组小鼠附睾脂肪组织中 AMPK α 的活化, 抑制 PPAR γ 蛋白的表达 (图 6)。

讨论

研究表明, BBR 具有降脂、降血糖和调节代谢性疾病的作用^[9-11], 但能否对长期使用激素引起的代谢紊乱具有改善作用, 鲜有报道。通过建立糖皮质激素诱导 C57 小鼠模型, 本研究观察到长期注射糖皮质激素药物会引起小鼠体内脂代谢紊乱, CHO 和 TG 等血浆脂质含量明显升高, 同时会引起小鼠向心性肥胖, 主要表现为腹膜内而非皮下脂肪堆积。口服 BBR 后可改善小鼠血糖和血脂水平, 明显抑制内脏脂肪堆积, 降低体脂含量。PCR 及 Western blot 实验结果表明, BBR 可显著降低小鼠脂肪组织 PPAR γ 表达, 促进 AMPK α 的磷酸化。细胞实验证明, 前脂肪细胞经激素诱导分化, PPAR γ 表达水平上升, 由于 PPAR γ 是脂肪分化早期重要的转录因子, 过度表达会刺激前脂肪细胞向成熟脂肪细胞的转变。给予 BBR 后, 可显著降低 3T3-L1 细胞 PPAR γ 表达, 减少细胞分化。同时本研究发现, BBR 也促进 3T3-L1 细胞中 AMPK 磷酸化。AMPK 是能量代谢调节过程中的关键分子, 与代谢性疾病密切相关, 参与脂肪酸氧化及胰岛素抵抗等多种生物学过程, 其表达主要受到体内 AMP/ATP 比例变化的影响, 当 AMP 水平升高或 ATP 含量降低时, 则会刺激 AMPK 的表达, 从而增加 ATP 的合成, 促进分解代谢^[12]。AMPK 活化可减少脂肪酸、胆固醇的产生并促进脂肪酸氧化, 同时对脂代谢下游通路起到调节作用, 是代谢性疾病的研究热点。PPAR γ 是过氧化物酶体增殖剂激活受体 (PPARs) 的亚型之一, 属于核激素受体家族中的配体激活受体, 主要存在于脂肪组织中, 可以调节脂肪细胞分化、脂肪生

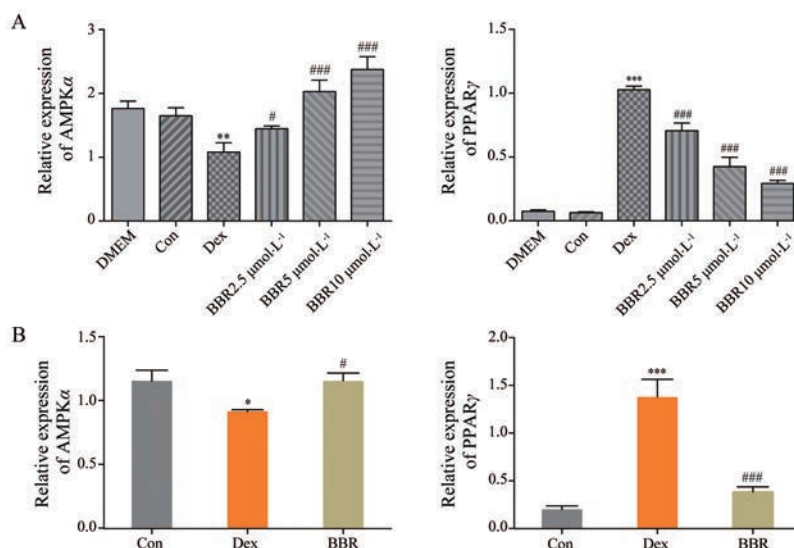


Figure 5 Effect of BBR on mRNA expression of AMPK α and PPAR γ in 3T3-L1 cells (A) and mouse adipose tissue (B). Total RNA was extracted from cells or epididymal fat, and analyzed by quantitative real-time PCR for AMPK α and PPAR γ , the results were normalized to GAPDH. A: $n = 3$, B: $n = 6$, mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Con; # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$ vs Dex

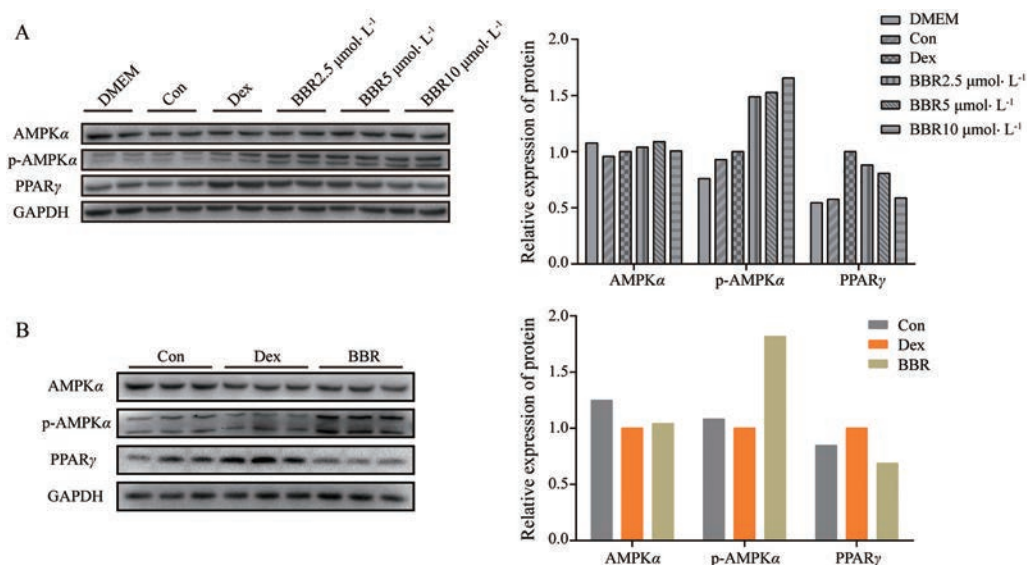


Figure 6 Effects of BBR on the protein expression of AMPK α and PPAR γ in 3T3-L1 cells (A) and mouse adipose tissue (B). The protein expression of p-AMPK α , AMPK α , and PPAR γ was evaluated by Western blot, GAPDH was used as control

成和葡萄糖代谢的基因表达,与2型糖尿病、肌萎缩症、动脉粥样硬化、肥胖和其他代谢疾病有密切的关系^[13-15]。BBR作为一种多靶点药物,可减少动物脂肪组织及3T3-L1细胞中PPAR γ 表达,同时升高p-AMPK α 蛋白及mRNA水平,BBR可能通过影响p-AMPK α 及PPAR γ 的表达来发挥抑制脂肪组织中前脂肪细胞分化,减少脂肪组织堆积,调节血糖和血脂作用。

本研究结果提示,BBR具有改善由激素引起的内脏脂肪堆积及糖脂代谢紊乱的作用。AMPK及PPAR γ 途径可能起到重要的作用,为进一步探讨BBR治疗激素引起的代谢紊乱等不良反应提供研究基础。

作者贡献: 马晓蕾负责动物和细胞实验的操作及论文的撰写;蒋卫、樊伟明及傅小峰参与了数据分析及文献检索;王璐璐及蒋建东负责实验设计及论文审阅。

利益冲突: 所有作者均不存在利益冲突。

References

- [1] Shimizu N, Yoshikawa N, Ito N, et al. Crosstalk between glucocorticoid receptor and nutritional sensor mTOR in skeletal muscle [J]. *Cell Metab*, 2011, 13: 170-182.
- [2] Raalte DHV, Ouwens DM, Diamant M. Novel insights into glucocorticoid-mediated diabetogenic effects: towards expansion of therapeutic options [J]. *Eur J Clin Invest*, 2009, 39: 81-93.
- [3] Androulakis II, Kaltsas GA, Kollias GE. Patients with apparently nonfunctioning adrenal incidentalomas may be at increased cardiovascular risk due to excessive cortisol secretion [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99: 2754-2762.
- [4] Ferrau F, Korbonits M. Metabolic comorbidities in Cushing's syndrome [J]. *Eur J Endocrinol*, 2015, 173: M133-M157.
- [5] Arnaldi G, Scandali VM, Trementino L, et al. Pathophysiology of dyslipidemia in Cushing's syndrome [J]. *Neuroendocrinology*, 2010, 92 Suppl 1: 86-90.
- [6] Komal S, Ranjan B, Neelam C, et al. Berberis aristata: a review [J]. *Int J Res Ayurveda Pharm*, 2011, 2: 383-388.
- [7] Jiang T, Jia YH, Li YS. Research progress of berberine lipid-lowering mechanism [J]. *Drugs Clin (现代药物与临床)*, 2016, 31: 727-730.
- [8] Liu Y, Zhao Y, Guo DL, et al. Synergistic antimicrobial activity of berberine hydrochloride, baicalein and borneol against candida albicans [J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9: 353-357.
- [9] Chang W, Chen L, Hatch GM. Berberine as a therapy for type 2 diabetes and its complications: from mechanism of action to clinical studies [J]. *Biochem Cell Biol*, 2015, 93: 479-486.
- [10] Zhao L, Cang Z, Sun H, et al. Berberine improves glucogenesis and lipid metabolism in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *BMC Endocr Disord*, 2017, 17: 13.
- [11] Shen N, Li CN, Huan Y, et al. Research progress of berberine in regulating blood glucose and lipid metabolism disorders [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2010, 45: 699-704.
- [12] Ke R, Xu Q, Li C, et al. Mechanisms of AMPK in the maintenance of ATP balance during energy metabolism [J]. *Cell Biol Int*, 2018, 42: 384-392.
- [13] Berger JP, Akiyama TE, Meinke PT. PPARs: therapeutic targets for metabolic disease [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2005, 26: 244-251.
- [14] Staels B, Fruchart JC. Therapeutic roles of peroxisome proliferator-activated receptor agonists [J]. *Diabetes*, 2005, 54: 2460-2470.
- [15] Grimaldi PA. The roles of PPARs in adipocyte differentiation [J]. *Prog Lipid Res*, 2001, 40: 269-281.