

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research茯苓酸通过激活 PPAR γ /LXR α 通路调节
胆固醇代谢防治胆结石的机制研究Pachymic acid prevents cholesterol gallstones by activating the PPAR γ /LXR α
pathway to regulate hepatic cholesterol metabolism张青向, 吴倩, 台剑熊,
李 宁, 李 广, 刘昭明,
李恒力(衡水市人民医院 肝胆胰外科, 河北 衡水,
053000)ZHANG Qing - xiang, WU Qian,
TAI Jian - xiong, LI Ning,
LI Guang, LIU Zhao - ming,
LI Heng - li(Hepatobiliary and Pancreatic Surgery
Department, Hengshui People's Hospital,
Hengshui 053000, Hebei Province, China)基金项目: 2024 年河北省衡水市科技计划基金
资助项目(2024014037Z)作者简介: 张青向(1989 -), 男, 主治医师, 主要
从事肝胆胰外科方面的研究和工作

通信作者: 张青向

MP: 15503186042

E - mail: flgo6u@21cn.com

摘要:目的 探讨茯苓酸(Pac)对胆结石(GS)模型胆固醇代谢的影响及其潜在分子机制。方法 通过饲喂高脂饲料构建 GS 小鼠模型。将 50 只健康 SPF 级雄性小鼠随机分为对照组(普通饮食)、模型组(建模)、低剂量实验组(建模 + 25 mg · kg⁻¹ Pac)、高剂量实验组(建模 + 50 mg · kg⁻¹ Pac)和抑制剂组(建模 + 50 mg · kg⁻¹ Pac + 1 mg · kg⁻¹ GW9662)。对胆汁中肉眼可见的胆固醇结晶或结石进行胆结石等级测定。蛋白质印迹法检测过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)/肝 X 受体 α (LXR α) 通路蛋白的表达。结果 对照组、模型组、低剂量实验组、高剂量实验组和抑制剂组的小鼠的胆结石等级分别为(0 ± 0)、(4.70 ± 0.46)、(3.70 ± 0.64)、(1.10 ± 0.70)和(3.20 ± 0.60)级, PPAR γ 蛋白相对表达水平分别为 1.41 ± 0.13、0.32 ± 0.02、0.48 ± 0.05、1.39 ± 0.15 和 0.80 ± 0.07, LXR α 蛋白相对表达水平分别为 0.99 ± 0.07、0.33 ± 0.03、0.42 ± 0.02、1.00 ± 0.09 和 0.73 ± 0.05。模型组的上述指标与对照组、低剂量实验组、高剂量实验组比较, 抑制剂组的上述指标与高剂量实验组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 Pac 能够有效预防高脂饮食诱导的小鼠胆固醇性胆结石形成, 其作用机制与激活 PPAR γ /LXR α 信号通路, 重塑胆固醇代谢稳态有关。

关键词: 茯苓酸; 胆结石; 胆固醇代谢; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; 肝 X 受体 α

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.11.007

中图分类号: R657.4 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2026)11-1538-07

Abstract: Objective To investigate the effects of pachymic acid (Pac) on cholesterol metabolism in a gallstone (GS) model and its underlying molecular mechanisms. **Methods** A mouse model of GS was established by feeding a high-fat diet. Fifty healthy SPF male mice were randomly divided into five groups: Control group (fed a normal diet), model group (gallstone model), experimental - L group (model + 25 mg · kg⁻¹ Pac), experimental - H group (model + 50 mg · kg⁻¹ Pac), and inhibitor group (model + 50 mg · kg⁻¹ Pac + 1 mg · kg⁻¹ GW9662). Gallstone grades were determined based on macroscopic cholesterol crystals or stones observed in bile. The expression of proteins in the peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ)/liver X receptor α (LXR α) pathway was detected by Western blot. **Results** The gallstone grades in the control, model, experimental - L, experimental - H, and inhibitor groups were (0 ± 0), (4.70 ± 0.46), (3.70 ± 0.64), (1.10 ± 0.70), and (3.20 ± 0.60), respectively. The relative expression levels of PPAR γ and LXR α proteins were 1.41 ± 0.13, 0.32 ± 0.02, 0.48 ± 0.05, 1.39 ± 0.15, and 0.80 ± 0.07, respectively. The relative expression levels of LXR α proteins were 0.99 ± 0.07, 0.33 ± 0.03, 0.42 ± 0.02, 1.00 ± 0.09, and 0.73 ± 0.05, respectively. The above indicators of the model group compared with the control group, the low-dose experimental group, and the high-dose experimental group, and the above indicators of the inhibitor group compared with the high-dose experimental group, all showed significant differences with statistical significance (all $P < 0.05$). **Conclusion** Pac can effectively prevent the formation of cholesterol gallstones induced by high-fat diet in mice, and its mechanism of action is related to activating the PPAR γ /LXR α signaling pathway and remodeling the cholesterol metabolism homeostasis.

(3.70 ± 0.64), (1.10 ± 0.70), and (3.20 ± 0.60) grades, respectively; The relative expression levels of PPAR γ protein were 1.41 ± 0.13 , 0.32 ± 0.02 , 0.48 ± 0.05 , 1.39 ± 0.15 , and 0.80 ± 0.07 , respectively; The relative expression levels of LXR α protein were 0.99 ± 0.07 , 0.33 ± 0.03 , 0.42 ± 0.02 , 1.00 ± 0.09 , and 0.73 ± 0.05 , respectively. Statistically significant differences were observed when comparing the model group with the control, experimental - L, and experimental - H groups, as well as when comparing the inhibitor group with the experimental - H group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Pachymic acid effectively prevents high - fat diet - induced cholesterol gallstone formation in mice. Its protective mechanism is associated with the activation of the PPAR γ /LXR α signaling pathway, leading to the restoration of cholesterol metabolic homeostasis.

Key words: pachymic acid; gallstones disease; cholesterol metabolism; peroxisome proliferator - activated receptor γ ; liver X receptor α

胆结石 (gallstone, GS) 是世界上最为常见的消化系统疾病之一,由多种因素引发,包括胆汁中胆固醇过饱和、胆囊功能异常、肠肝胆汁酸循环障碍等,其中胆固醇过饱和是发病的必要条件^[1]。目前,腹腔镜胆囊切除术被视为有症状 GS 患者的标准治疗方法,但该手术易引发多种不良事件^[2]。因此,GS 患者仍然需要替代治疗方法。中药可通过多种途径预防和治疗胆石症,降低并发症的发生率和复发率^[3]。茯苓酸 (pachymic acid, Pac) 是从中药茯苓中提取的一种甾体三萜化合物。现代药理研究证实,其具备抗炎、抗氧化以及调节糖脂代谢等多种药理作用^[4]。近年来报道提示,Pac 可改善高脂饮食诱导的肝脏脂质堆积情况^[5],然而,它对胆道系统胆固醇代谢的具体影响,特别是对 GS 形成的干预作用及其深层机制,尚未有系统研究。基于此,本研究采用经典饮食诱导小鼠 GS 模型,探究 Pac 调节胆固醇代谢、防治 GS 的分子机制,期望能为 GS 的防治以及茯苓的深度开发提供新的科学依据。

材料与方法

1 材料

动物 50 只 C57BL/6J 雄性小鼠,鼠龄 6 ~ 8 周,体质量为 (18 ± 2) g,由浙江杭州子源实验动物科技有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(浙)2024 - 0004,使用许可证号:SYXK(冀)2024 - 001。本研究经衡水市人民医院实验动物伦理委员会批准(伦理批号:2024241 - 1)。

药品与试剂 茯苓酸,规格:每瓶 100 mg,纯度:99.94%,批号:HY - N0371,美国 MCE 公司生产;过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator - activated receptor γ , PPAR γ) 通路抑制剂 GW9662,规格:每瓶 10 mg,纯度 $\geq 98.00\%$,批号:GC13969,美国 Glpbio 公司生产;苏木素 - 伊红 (hematoxylin and eosin

staining, HE) 和油红 O 染色试剂盒,均由上海源叶生物科技有限公司生产;TRIzol 试剂,美国 Invitrogen 公司生产;互补脱氧核糖核酸 (complementary deoxyribonucleic acid, cDNA) 逆转录试剂盒,美国 Thermo Fisher Scientific 公司生产;SYBR 实时荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative real - time polymerase chain reaction, qPCR) Master Mix,湖南艾科瑞生物科技有限公司生产;PPAR γ 抗体、肝 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α) 抗体和甘油醛 - 3 - 磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体,均由美国 CST 公司生产;山羊抗兔的二抗,北京中杉金桥生物技术有限公司生产。

仪器 BCE224I - 1CCN 电子分析天平,德国 Sartorius 公司产品;AU - 480 全自动生化分析仪和 Allegra64R 高速冷冻离心机,均为美国 Beckman Coulter Life Sciences 公司产品;QuantStudio5 荧光定量 PCR 仪,美国 Thermo Fisher 公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建^[6]

所有小鼠在实验前于河北医科大学(建华校区实验动物平台)实验动物中心的 SPF 级动物实验室内进行为期 1 周的适应性饲养。饲养条件为:环境温度 (22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 (50 ± 10) %, 12 h/12 h 明暗循环光照周期,并提供标准的维持饲料及饮用水,供动物自由采食和饮水。通过饲喂高脂饲料(配方为高脂、高热量、高胆固醇,含 15% 脂肪、1.5% 胆固醇及 0.5% 胆酸)构建 GS 小鼠模型。

2.2 动物分组与处理方法^[7-8]

50 只健康 SPF 级雄性小鼠,用随机数表法平均分为 5 组,每组 10 只。对照组与模型组每日腹腔注射等体积的生理盐水;低剂量实验组和高剂量实验组分别腹腔注射 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 与 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 Pac;抑制组则腹腔注射 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的茯苓酸和 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

的 GW9662。为确保药物混合后的稳定性, Pac 与 GW9662 在注射前溶于含 1% 二甲基亚砷的生理盐水中, 并经 0.22 μm 微孔滤膜过滤及短暂涡旋混匀, 确认无沉淀或浑浊现象后进行注射。所有干预均为每日 1 次, 持续 8 周。使用 1% 戊巴比妥钠溶液(腹腔注射, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 对所有小鼠进行麻醉。随后采集血液样本, 并摘取肝脏与胆囊。一部分肝脏组织置于 -80°C 冰箱中保存, 用于后续实时(real-time, RT)-qPCR 及蛋白质印迹法分析。另一部分浸泡于 4% 甲醛溶液进行固定。

2.3 血脂和肝功能指标测定

用 AU-480 全自动生化分析仪, 测定各组小鼠血清中总甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、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)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、结合胆红素(direct bilirubin, DBIL)、总胆汁酸(total bile acids, TBA)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)以及碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的水平。

2.4 胆结石等级测定

根据 AKIYOSHI 等^[9]建立的 6 级判断标准, 对胆汁中肉眼可见的胆固醇结晶或结石进行双盲法分级, 由 2 名不知晓分组情况的研究人员独立评分, 取平均值, 并报告评分者间信度。具体标准如下: 0 级, 胆囊充满透明胆汁; 1 级, 可见少量细小结晶; 2 级, 约发现 10 个细小结晶; 3 级, 结晶占据胆囊约 50% 的面积; 4 级, 结晶占据胆囊 50% 以上的面积; 5 级, 形成圆形胆结石。在评分过程中, 通过两位评分者之间的 Kappa 值以评估双盲评分的规范性。结果显示, Kappa 值为 0.82 ($P < 0.001$), 表明评分者间的一致性较高, 双盲评分方法可靠。

2.5 组织学染色

取肝组织样本, 经 4% 多聚甲醛固定后进行石蜡包埋。制备厚度为 4 μm 的石蜡切片, 进行 HE 染色。在显微镜下观察并采集图像, 镜下观察肝组织病理改变并进行非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)活动度评分(NAFLD activity score, NAS)^[10]。为测定肝组织脂质积聚情况, 采用油红 O 染色法。将肝样本以冰冻切片包埋剂处理, 制备 4 μm 厚的冰冻切片, 并用油红 O 染色液进行染色。使用 Image Pro Plus 软件测定油红 O 染色的总面积(Area)与积分吸光度(integrated absorbance, IA), 并以

IA 总和与面积总和的比值($IA(\text{sum})/\text{Area}(\text{sum})$)作为最终定量分析结果^[11]。

2.6 RT-qPCR

根据制造商提供的方案, 使用 TRIzol 试剂从肝脏组织中提取总核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)。随后, 使用高容量 cDNA 逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录为 cDNA, 操作均依据说明书进行。用 SYBR qPCR Master Mix 试剂盒, 在 QuantStudio5 型荧光定量 PCR 系统上, 每个样本重复测定 3 次以检测信使 RNA(messenger RNA, mRNA)相对表达量。PCR 扩增程序为: 95°C 预变性 1 min; 随后进行 45 个循环, 包括 95°C 变性 15 s 和 60°C 退火/延伸 1 min。以 GAPDH 作为内参基因, 通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标基因的 mRNA 相对表达水平。引物序列详见表 1。

表 1 引物序列信息

Table 1 Primer sequence information

Gene	Primer type	5'→3'
SR-BI	F	CGGGAGCGTGGACCCTATGT
	R	ACACGGTGTGCTTGTTCATTGA
HMGCR	F	TCACATGGTTTCAACAGATCA
	R	GCACAGAGACTCCTCAGATGTG
ABCG5	F	AATGCTGTGAATCTGTTTCCCA
	R	CCACTTATGATACAGGCCATCCT
CYP7A1	F	AAATACGACCGGTACCTTGATG
	R	TAACGCTCAGCACTCGTTACAT
CYP7B1	F	CACGGGGATGCTCTTCACGG
	R	TGAGCACCAGTCTTTTGCATAG
GAPDH	F	GCTACACTGAGGACCAGTTGT
	R	CTCCTGTTATTATGGGGGTCTG

2.7 蛋白免疫印迹法^[6]

用放射免疫沉淀裂解液提取肝脏总蛋白, 并通过二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid assay, BCA)法对蛋白浓度进行定量。取 50 μg 总蛋白样品, 在 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳分离, 随后将蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜上。用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后, 将膜与兔抗 PPAR γ 抗体(1:1 000)、兔抗 LXR α 抗体(1:1 000)和兔抗 GAPDH 抗体(1:2 000)在 4°C 孵育过夜, 再与辣根过氧化物酶标记的相应二抗(1:1 000)于 37°C 孵育 1 h。最后用电化学发光法进行显影, 并用 ImageJ 软件对条带灰度值进行分析。

3 统计学处理

用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。所有数据首先进行正态性检验(Shapiro-Wilk test)和方差齐性检验(Levene test), 确认数据符合正态分布且方差齐性, 计数资料以率(%)表示, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比

较用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间比较用SNK q (student-newman-keuls q , SNK- q)检验确定。

结 果

1 茯苓酸对胆结石模型小鼠血清生化指标的影响

与对照组相比,模型组小鼠的TG、TC、LDL-C、TBIL、DBIL、ALT、ALP及AST水平均显著升高(均 $P<0.05$),而HDL-C水平显著降低($P<0.05$);与模型组相比,低剂量实验组和高剂量实验组小鼠的上述指标均发生显著逆转(均 $P<0.05$);此外,高剂量实验组相较于低剂量实验组在上述指标上呈现更显著的改善($P<0.05$);与高剂量实验组相比,抑制剂组小鼠的TG、TC、LDL-C、TBIL、DBIL、ALT、ALP及AST水平均显著升高(均 $P<0.05$),而HDL-C水平显著降低($P<0.05$),见表2和表3。

2 茯苓酸对胆结石模型小鼠胆结石形成的影响

对照组、模型组、低剂量实验组、高剂量实验组和抑制剂组的小鼠的胆结石等级分别为(0 ± 0)、(4.70 ± 0.46)、(3.70 ± 0.64)、(1.10 ± 0.70)和

(3.20 ± 0.60)级,结石发生率分别为0.00%、100.00%、70.00%、30.00%和60.00%。对照组与模型组比较,低剂量实验组和高剂量实验组与模型组比较,抑制剂组与高剂量实验组比较,胆结石等级在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。

3 茯苓酸对胆结石模型小鼠肝脏病理变化的影响

HE和油红O染色可见对照组肝小叶与肝窦结构清晰,肝细胞形态正常,未见红色脂滴,无脂质蓄积。模型组显示肝窦变窄、肝小叶排列紊乱、肝细胞肿胀伴胞质内脂肪空泡,可见肝细胞内大量弥漫分布的红色脂滴,表明存在严重脂质蓄积,与对照组相比,模型组的NAS和IA/Area均显著增加($P<0.05$)。相较于模型组,低剂量实验组和高剂量实验组肝小叶结构、脂肪空泡及肝细胞形态均有改善,肝细胞内红色脂滴显著减少,脂质蓄积程度减轻,NAS和IA/Area均显著降低(均 $P<0.05$),高剂量实验组的改善趋势更为明显。与高剂量实验组相比,抑制剂组肝细胞排列再度紊乱、肿胀,并出现脂肪空泡,肝细胞内红色脂滴增加,脂质蓄积程度加重,其NAS和IA/Area均显著增加(均 $P<0.05$),见图1和表4。

表2 各组小鼠血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、总胆汁酸(TBA)水平的比较($n=10, \bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and total bile acid (TBA) levels in mice in each group ($n=10, \bar{x}\pm s$)

Group	TG (mmol · L ⁻¹)	TC (mmol · L ⁻¹)	LDL-C (mmol · L ⁻¹)	HDL-C (mmol · L ⁻¹)	TBA (μmol · L ⁻¹)
Control	0.61 ± 0.07	1.29 ± 0.12	0.26 ± 0.04	0.42 ± 0.03	17.94 ± 3.78
Model	1.38 ± 0.10 *	5.24 ± 0.38 *	1.49 ± 0.15 *	0.21 ± 0.03 *	169.76 ± 13.61 *
Experimental-L	1.09 ± 0.11 #	4.67 ± 0.31 #	1.02 ± 0.13 #	0.32 ± 0.02 #	135.13 ± 12.07 #
Experimental-H	0.75 ± 0.06 # ^Δ	2.68 ± 0.17 # ^Δ	0.43 ± 0.06 # ^Δ	0.40 ± 0.03 # ^Δ	76.26 ± 6.39 # ^Δ
Inhibitor	1.10 ± 0.14 ▲	3.99 ± 0.19 ▲	0.85 ± 0.06 ▲	0.31 ± 0.02 ▲	118.43 ± 9.67 ▲

Control group: Fed a normal diet; Model group: Gallstone model; Experimental-L group: Model + 25 mg · kg⁻¹ Pac; Experimental-H group: Model + 50 mg · kg⁻¹ Pac; Inhibitor group: Model + 50 mg · kg⁻¹ Pac + 1 mg · kg⁻¹ GW9662; Compared with control group, * $P<0.05$; Compared with model group, # $P<0.05$; Compared with experimental-L group, ^Δ $P<0.05$; Compared with experimental-H group, ▲ $P<0.05$.

表3 各组小鼠血清总胆固醇(TBiL)、直接胆固醇(DBiL)、谷丙氨转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ANP)、谷丙氨转移酶(AST)水平的比较($n=10, \bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of serum total cholesterol (TBiL), direct cholesterol (DBiL), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ANP), and alanine aminotransferase (AST) levels in mice in each group ($n=10, \bar{x}\pm s$)

Group	TBiL (μmol · L ⁻¹)	DBiL (μmol · L ⁻¹)	ALT (U · L ⁻¹)	ALP (U · L ⁻¹)	AST (U · L ⁻¹)
Control	5.02 ± 0.43	3.13 ± 0.39	27.46 ± 4.12	38.27 ± 3.23	42.39 ± 6.26
Model	89.56 ± 9.01 *	67.49 ± 5.63 *	215.03 ± 17.59 *	112.45 ± 9.89 *	296.45 ± 35.16 *
Experimental-L	68.34 ± 5.46 #	50.35 ± 5.07 #	169.54 ± 15.74 #	74.01 ± 6.93 #	235.26 ± 20.37 #
Experimental-H	29.77 ± 4.38 # ^Δ	19.93 ± 3.68 # ^Δ	73.39 ± 10.32 # ^Δ	45.12 ± 3.76 # ^Δ	103.12 ± 13.91 # ^Δ
Inhibitor	63.12 ± 7.24 ▲	37.28 ± 4.95 ▲	133.95 ± 12.05 ▲	69.65 ± 5.63 ▲	170.48 ± 15.78 ▲

Compared with Control group, * $P<0.05$; Compared with model group, # $P<0.05$; Compared with experimental-L group, ^Δ $P<0.05$; Compared with experimental-H group, ▲ $P<0.05$.

表4 各组小鼠非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 活动度评分 (NAS) 和积分吸光度 (IA)/Area 的比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score (NAS) and integrated absorbance (IA)/Area of mice in each group ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	NAS	IA/Area
Control	0.67 ± 0.20	0.06 ± 0.01
Model	6.94 ± 0.89 *	0.61 ± 0.05 *
Experimental-L	4.45 ± 0.52 #	0.47 ± 0.03 #
Experimental-H	3.00 ± 0.87 # [△]	0.15 ± 0.02 # [△]
Inhibitor	4.15 ± 0.37 ▲	0.29 ± 0.03 ▲

NAS: Activity score; IA/Area: Integrated absorbance/total area ratio. Compared with Control group, * $P < 0.05$; Compared with Model group, # $P < 0.05$; Compared with Experimental-L group, [△] $P < 0.05$; Compared with Experimental-H group, ▲ $P < 0.05$.

4 茯苓酸对胆结石模型小鼠胆固醇代谢相关基因表达水平的影响

与对照组相比,模型组小鼠的 SR-BI、HMGCR 和 ABCG5 的 mRNA 表达均显著增加 (均 $P < 0.05$), CYP7A1 和 CYP7B1 的 mRNA 相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.05$); 与模型组相比,低剂量实验组和高剂量实验组小鼠的 SR-BI、HMGCR 和 ABCG5 的

mRNA 相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.05$), CYP7A1 和 CYP7B1 的 mRNA 相对表达水平均显著增加 (均 $P < 0.05$); 与低剂量实验组相比,高剂量实验组小鼠的 SR-BI、HMGCR 和 ABCG5 的 mRNA 相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.05$), CYP7A1 和 CYP7B1 的 mRNA 相对表达水平均显著增加 (均 $P < 0.05$); 与高剂量实验组相比,抑制剂组小鼠的 SR-BI、HMGCR 和 ABCG5 的 mRNA 相对表达水平均显著增加 (均 $P < 0.05$), CYP7A1 和 CYP7B1 的 mRNA 相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.05$), 见表5。

5 茯苓酸对胆结石模型小鼠 PPAR γ /LXR α 通路的影响

对照组、模型组、低剂量实验组、高剂量实验组和抑制剂组的小鼠的 PPAR γ 蛋白相对表达水平分别为 1.41 ± 0.13 、 0.32 ± 0.02 、 0.48 ± 0.05 、 1.39 ± 0.15 和 0.80 ± 0.07 , LXR α 蛋白相对表达水平分别为 0.99 ± 0.07 、 0.33 ± 0.03 、 0.42 ± 0.02 、 1.00 ± 0.09 和 0.73 ± 0.05 。对照组与模型组比较,低剂量实验组和高剂量实验组与模型组比较,抑制剂组与高剂量实验组比较,PPAR γ 和 LXR α 蛋白相对表达水平在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 见图2和表6。

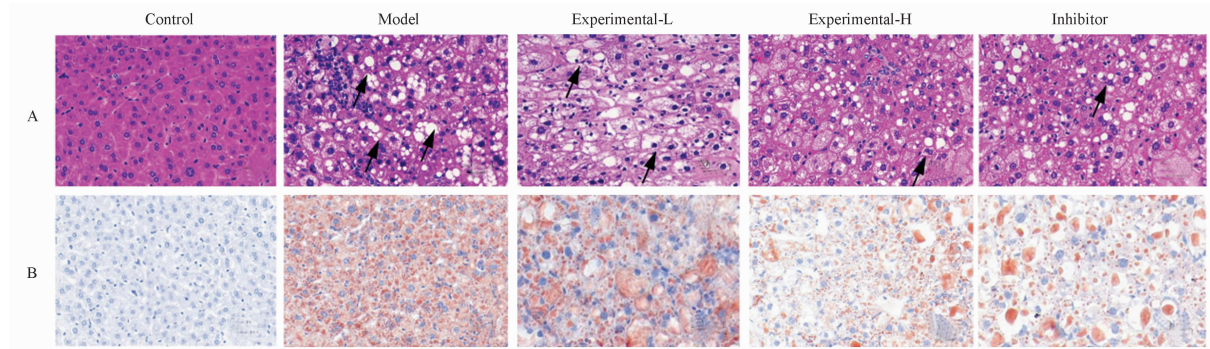


图1 各组小鼠肝脏组织苏木精-伊红(A)和油红O(B)染色图($\times 200$)

Figure 1 Hematoxylin-eosin (A) and oil red O (B) staining patterns of liver tissues of mice in each group ($\times 200$)

The arrow points to fat vacuolar degeneration.

表5 各组小鼠胆固醇代谢相关基因相对表达水平的比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of relative expression levels of cholesterol metabolism-related genes in mice of each group ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	SR-BI	HMGCR	ABCG5	CYP7A1	CYP7B1
Control	0.99 ± 0.05	1.00 ± 0.09	1.01 ± 0.08	1.01 ± 0.07	1.02 ± 0.08
Model	3.10 ± 0.19 *	2.87 ± 0.15 *	3.36 ± 0.29 *	0.31 ± 0.03 *	0.26 ± 0.02 *
Experimental-L	2.71 ± 0.20 #	2.30 ± 0.12 #	2.59 ± 0.24 #	0.45 ± 0.03 #	0.38 ± 0.04 #
Experimental-H	1.54 ± 0.15 # [△]	1.45 ± 0.16 # [△]	1.39 ± 0.15 # [△]	0.79 ± 0.08 # [△]	0.66 ± 0.05 # [△]
Inhibitor	2.38 ± 0.13 ▲	2.06 ± 0.14 ▲	2.31 ± 0.17 ▲	0.60 ± 0.05 ▲	0.42 ± 0.04 ▲

SR-BI: Scavenger receptor class B type I; HMGCR: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase; ABCG5: ATP-binding cassette transporter subfamily G member 5; CYP7A1: Cytochrome P450 7A1; CYP7B1: Cytochrome P450 7B1; Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$; Compared with experimental-L group, [△] $P < 0.05$; Compared with experimental-H group, ▲ $P < 0.05$.

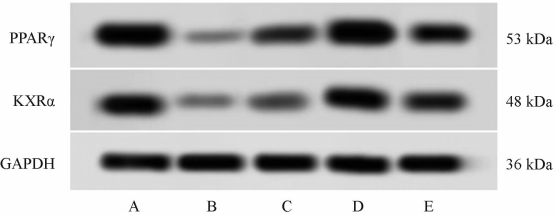


图2 茯苓酸对胆结石模型小鼠过氧化物体增生物激活受体 γ (PPAR γ)和肝脏x受体a(LXR α)蛋白表达的影响

Figure 2 Effect of pachyic acid on the expression of peroxisome proliferator – activated receptor γ (PPAR γ) and liver x receptor a (LXR α) proteins in mice with cholelithiasis

A: Control group; B: Model group; C: Experimental – L group; D: Experimental – H group; E: Inhibitor group

表6 各组小鼠过氧化物体增生物激活受体 γ (PPAR γ)、肝脏x受体a(LXR α)蛋白相对表达水平的比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 6 Comparison of the protein relative expression levels of peroxisome proliferator – activated receptor γ (PPAR γ) and liver x receptor a (LXR α) in each group of mice($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	PPAR γ	LXR α
Control	1.41 $\pm$ 0.13	0.99 $\pm$ 0.07
Model	0.32 $\pm$ 0.02 *	0.33 $\pm$ 0.03 *
Experimental – L	0.48 $\pm$ 0.05 #	0.42 $\pm$ 0.02 #
Experimental – H	1.39 $\pm$ 0.15 # Δ	1.00 $\pm$ 0.09 # Δ
Inhibitor	0.80 $\pm$ 0.07 $\blacktriangle$	0.73 $\pm$ 0.05 $\blacktriangle$

Compared with Control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$; Compared with experimental – L group, $\Delta P < 0.05$; Compared with experimental – H group, $\blacktriangle P < 0.05$.

讨 论

在中医理论中,GS 归属于“胆胀”“胁痛”“黄疸”等范畴,核心病机为湿热、痰瘀、气郁等病理因素互结,导致肝失疏泄、胆腑气机不畅、胆汁疏泄失常,久则瘀滞成石^[12]。茯苓为临床常用中药,具保肝、利尿、健脾祛湿之效,常用于痰湿内阻所致代谢性疾病^[13]。在大柴胡汤加减^[14]、茵连化浊解毒汤^[15]等治胆石方剂中多作为佐药,发挥健脾祛湿、利尿排石之功。Pac 是茯苓核心活性萜类成分,已知可调节血脂、保护肝脏^[16-17]。但其对 GS 的防治作用及分子机制尚未明确。本研究通过致石饲料构建小鼠 GS 模型,探讨 Pac 干预胆结石的效果与机制,为中医药防治 GS 提供实验支撑。本研究成功构建高脂饮食诱导的小鼠 GS 模型,在造模同时给予 Pac 干预,结果显示 Pac 可显著降低模型小鼠血脂水平,改善肝损伤相关指标,有效抑制结石形成。肝组织 HE 染色结果证实, Pac 能明显减轻肝细胞损伤与脂肪变性程度,提示

Pac 对 GS 小鼠脂质代谢、肝功能及结石生成均具有显著干预作用,为后续机制探索奠定基础。

肝脏胆固醇代谢稳态是预防胆结石的关键,主要涉及胆固醇摄取、合成、外排及胆汁酸合成等环节。SR – BI 作为高密度脂蛋白受体,负责肝脏对胆固醇酯的摄取,其表达升高会促进胆固醇沉积^[18]。HMGCR 是胆固醇合成限速酶,活性异常上升会导致胆固醇生成过量^[19];ABCG5 为胆汁胆固醇外排关键转运蛋白,高表达会加速胆固醇向胆汁排泄,增加结石风险^[20]。而胆汁酸合成紊乱同样参与结石发生,CYP7A1、CYP7B1 分别是胆汁酸经典与替代合成途径的限速酶,表达降低会减少胆汁酸生成,打破胆汁稳态^[21-23]。本研究发现, Pac 可显著下调 SR – BI、HMGCR、ABCG5 的表达,减少胆固醇摄取、合成与胆汁外排;同时上调 CYP7A1、CYP7B1 表达,促进胆汁酸合成,多靶点重塑肝脏胆固醇代谢平衡,减少胆汁中胆固醇过饱和析出,进而抑制结石形成。

PPAR γ 和 LXR α 作为调控脂质代谢的核心核受体,2 者之间存在着紧密且复杂的交互关系。ZHAO 等^[24]的研究表明,PPAR γ 激活可结合 LXR α 启动子区域上调其表达,启动下游转录级联反应,调控胆固醇逆向转运、外排及胆汁酸代谢相关基因,进而降低脂质蓄积、抑制结石形成^[25-26]。该通路可调控 SR – BI、CYP7A1、ABCG5/8 等关键分子,是影响肝脏胆固醇代谢、参与 GS 发生的重要途径^[27-28],提示 PPAR γ /LXR α 可能是调控肝脏胆固醇代谢、参与胆固醇性 GS 形成的关键途径。已有研究证实 PPAR γ 是 Pac 调控细胞代谢的重要靶点^[29],本研究进一步发现, Pac 可显著上调 GS 小鼠肝脏 PPAR γ 、LXR α 的蛋白表达;使用 PPAR γ 通路抑制剂 GW9662 后, Pac 对血脂、肝功能及结石形成的改善作用被显著逆转,表明 Pac 通过激活 PPAR γ 进而上调 LXR α , 形成 PPAR γ /LXR α 信号轴,发挥抗结石作用。

本研究提示: Pac 能够有效预防高脂饮食诱导的小鼠胆固醇性 GS 形成,其作用机制与激活 PPAR γ /LXR α 信号通路,重塑胆固醇代谢稳态有关。本研究为茯苓酸及其来源中药茯苓用于防治 GS 提供了重要的药理学依据,其临床转化价值值得进一步探索。

参考文献:

[1] ZDANOWICZ K, DANILUK J, LEBENSZTEJN D M, et al. The etiology of cholelithiasis in children and adolescents – a literature review [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21): 13376.
[2] SANGIORGIO G, ZANGHÌ M, DIONIGI G, et al. Postcholecystectomy syndrome: Biliary – related complications [J].

- Minerva Surg*, 2023, 78(6): 684—691.
- [3] WANG W, ZHANG K, LIU B, *et al.* Chaihu Shugan prevents cholesterol gallstone formation by ameliorating the microbiota dysbiosis and metabolic disturbance in mice [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1291236. 2024-01-31 [2025-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38357365/>.
- [4] WEI C, WANG H, SUN X, *et al.* Pharmacological profiles and therapeutic applications of pachymic acid (Review) [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 24(3): 547.
- [5] REN G, LIN Y, QIU J, *et al.* Pachymic acid alleviates metabolic dysfunction - associated steatotic liver disease by inhibiting ferroptosis through PPAR α [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1554850. 2025-05-06 [2026-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40395733/>.
- [6] 卓臣义, 包崇婵, 冯时, 等. 大黄灵仙胶囊对胆结石小鼠模型法尼醇 X 受体的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(7): 836—841.
- [7] 鲁婵婵, 李鹤, 王诗韵, 等. 茯苓酸通过 NRF2/SLC7A11/GPX4 铁死亡途径对慢性炎症性肠病模型小鼠的影响 [J]. 中国药业, 2025, 34(20): 36—42.
- [8] 黄希健, 赵金鑫, 罗礼键, 等. 银杏内酯 B 对脂肪肝小鼠肝脏缺血再灌注损伤的影响及其机制 [J]. 精准医学杂志, 2024, 39(5): 408—412.
- [9] AKIYOSHI T, UCHIDA K, TAKASE H, *et al.* Cholesterol gallstones in alloxan - diabetic mice [J]. *J Lipid Res*, 1986, 27(9): 915—924.
- [10] 陆少君, 蔡肇栩, 郭瑞雪, 等. 基于 TLR-4/NF- κ B 信号通路探究金花茶提取物对非酒精性脂肪肝的作用 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(20): 349—360.
- [11] 彪雅宁, 储心乔, 张睦清, 等. 丹参泽泻汤对代谢相关脂肪性肝病大鼠 AMPK/Nrf2 信号通路的调节作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(1): 67—74.
- [12] 王素英, 章小燕, 闵闰. 大柴胡汤加减方对湿热证胆囊胆固酐结石小鼠胆固酐代谢基因 SRBI/ABCG5/G8 表达的影响 [J]. 福建中医药, 2023, 54(9): 12—17, 33.
- [13] CHEN K, DOU X, LIN Y, *et al.* Pachymic acid promotes brown/beige adipocyte differentiation and lipid metabolism in preadipocytes [J]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2025, 54(3): 333—341.
- [14] 常宁甫. 大柴胡汤加减联合胆舒胶囊治疗慢性胆囊炎合并胆结石临床疗效观察 [J]. 首都食品与医药, 2018, 25(12): 139.
- [15] 张正伟, 吴佳玉, 李斌. 茵陈化浊解毒汤对胆结石小鼠血生化指标、胆汁代谢谱的影响及其机制分析 [J]. 光明中医, 2022, 37(2): 228—230.
- [16] REN G, LIN Y, FU Y, *et al.* Multi - omics joint analysis: Pachymic acid ameliorated non - alcoholic fatty liver disease by regulating gut microbiota [J/OL]. *Food Res Int*, 2025, 209: 116178. 2025-05-01 [2026-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40253122/>.
- [17] PAN Z S, CHEN Y L, TANG K J, *et al.* Pachymic acid modulates sirtuin 6 activity to alleviate lipid metabolism disorders [J]. *Exp Ther Med*, 2023, 26(1): 320.
- [18] 苏忠, 孟维山. 荔枝核总黄酮通过调节肝脏中胆结石形成相关基因转录和 NF- κ B 抑制胆结石形成 [J]. 中国老年学杂志, 2025, 45(9): 2244—2247.
- [19] WANG Y, WANG J, ZHOU T, *et al.* Investigating the potential mechanism and therapeutic effects of SLXG for cholesterol gallstone treatment [J/OL]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155886. 2024-06-17 [2026-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39059092/>.
- [20] LI Y T, SHAO W Q, CHEN Z M, *et al.* GOLM1 promotes cholesterol gallstone formation via ABCG5 - mediated cholesterol efflux in metabolic dysfunction - associated steatohepatitis livers [J]. *Clin Mol Hepatol*, 2025, 31(2): 409—425.
- [21] ZHUANG Q, CHENG J, XIA J, *et al.* Gypenosides prevent and dissolve cholesterol gallstones by modulating the homeostasis of cholesterol and bile acids [J/OL]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 818144. 2022-04-04 [2026-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35445045/>.
- [22] CHOI Y J, YANG H S, ZHANG Y, *et al.* Intratracheal exposure to polyhexamethylene guanidine phosphate disrupts coordinate regulation of FXR - SHP - mediated cholesterol and bile acid homeostasis in mouse liver [J/OL]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 247: 114213. 2022-12-01 [2026-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36306612/>.
- [23] SHEN S, HUANG D, QIAN S, *et al.* Hyodeoxycholic acid attenuates cholesterol gallstone formation via modulation of bile acid metabolism and gut microbiota [J/OL]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 955: 175891. 2023-09-15 [2026-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37429516/>.
- [24] ZHAO M, XIE B, LI Y, *et al.* Resveratrol prevents gallstones in mice fed on a high fat diet via regulating PPAR- γ and SR - BI [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1543865. 2025-05-17 [2026-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40166468/>.
- [25] CHEN G, WU S. Role of baicalin and liver x receptor alpha in the formation of cholesterol gallstones in mice [J/OL]. *Gastroenterol Res Pract*, 2020, 2020: 1343969. 2020-04-21 [2026-05-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32382260/>.
- [26] YANG S, ZHANG Y, LIU X, *et al.* Effects of different components of buyang huanwu tang on the ppar γ /lxr α /abca1 pathway in hypercholesterolemia mouse model [J/OL]. *Int J Genomics*, 2025, 2025: 9595757. 2025-07-09 [2026-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40678621/>.
- [27] WANG G, HAN T, WANG S, *et al.* Peroxisome proliferator - activated receptor - γ prevents cholesterol gallstone formation in C57bl mice by regulating bile acid synthesis and enterohepatic circulation [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 7475626. 2018-07-12 [2026-01-09] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30105244/>.
- [28] LIU Y, WANG T, DING L, *et al.* Extract of gualou - xiebai herb pair improves lipid metabolism disorders by enhancing the reverse cholesterol transport in atherosclerosis mice [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2024, 21(2): 214—227.
- [29] WANG Z, WU P, ZHANG C, *et al.* Pachymic acid suppresses proliferation and invasion in colon cancer by inhibiting glycolysis via PPAR γ /ENO1 pathway [J/OL]. *Chem Biol Interact*, 2026, 424: 111881. 2026-01-25 [2026-01-30] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41390134/>. (本文编辑:王珊 收稿日期 2026-02-05)