

## 辣木籽提取物对高脂血症小鼠血脂及肝脏的影响

王宏<sup>1</sup>, 刘月<sup>1</sup>, 饶露<sup>1</sup>, 蔡荣珊<sup>1</sup>, 宋婷婷<sup>1</sup>, 贺震旦<sup>2</sup>, 徐应淑<sup>1</sup>, 熊永爱<sup>1</sup>

(1. 遵义医科大学药学院, 贵州遵义 563000; 2. 深圳技术大学药学院, 广东深圳 518118)

**摘要:** 通过向高脂血症模型小鼠灌胃辣木籽提取物, 研究辣木籽提取物对高脂血症小鼠血脂及肝脏的影响。将 60 只 KM 小鼠按体质量随机分为正常组, 模型组, 辛伐他汀组(1 mg/kg), 辣木籽提取物低(5 mg/kg)、中(10 mg/kg)、高(20 mg/kg)剂量组, 每组 10 只。除正常组饲喂基础饲料外, 其余各组小鼠以高脂饲料连续喂养。实验第 6 周开始, 除正常组和模型组外, 其余各组小鼠灌胃给予相应药物, 连续 3 周。实验结束后测定各组小鼠血清 HDL-C、LDL-C、TG、TC 水平; 剖取肝脏, 测定肝脏指数并进行病理形态学观察; 采用免疫组化法检测肝脏组织法尼酯 X 受体(FXR)蛋白的表达水平。结果表明: 低、中、高剂量辣木籽提取物可显著降低高脂血症小鼠血清 TG、TC 及 LDL-C 水平( $p < 0.05$ ), 极显著升高 HDL-C 水平( $p < 0.01$ ), 改善小鼠肝脏病理形态, 极显著降低小鼠肝脏病理评分( $p < 0.01$ ); 低剂量辣木籽提取物可显著降低小鼠肝脏指数, 低、中剂量辣木籽提取物可显著降低肝脏 FXR 蛋白的表达( $p < 0.05$ )。因此, 一定剂量的辣木籽提取物对高脂血症小鼠具有显著的治疗作用, 其作用机制可能与下调 FXR 蛋白表达有关。

**关键词:** 高脂血症; 辣木籽提取物; 血脂; 肝脏; 法尼酯 X 受体

中图分类号: R589.2; TS201.4 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2022)07-0066-05

### Effect of *Moringa oleifera* seed extract on blood lipid and liver in hyperlipidemia mice

WANG Hong<sup>1</sup>, LIU Yue<sup>1</sup>, RAO Lu<sup>1</sup>, CAI Rongshan<sup>1</sup>, SONG Tingting<sup>1</sup>,  
HE Zhendan<sup>2</sup>, XU Yingshu<sup>1</sup>, XIONG Yong'ai<sup>1</sup>

(1. College of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China; 2. College of Pharmacy, Shenzhen Technical University, Shenzhen 518118, Guangdong, China)

**Abstract:** By gavage of *Moringa oleifera* seed extract to hyperlipidemia mice model, the effects of *Moringa oleifera* seed extract on blood lipid and liver in hyperlipidaemia mice were studied. Sixty KM mice were randomly divided into control group, model group, simvastatin group (1 mg/kg), *Moringa oleifera* seed extract low (5 mg/kg), medium (10 mg/kg) and high (20 mg/kg) dose groups according to body mass, 10 mice in each group. Except for the control group fed the basic feed, the other groups were given high-fat diet. At the sixth week, except for the control group and the model group, the mice in other groups were given the drugs correspondingly in serum for three weeks. The HDL-C, LDL-C, TG and TC levels in serum of mice were measured at the end of the experiment. The liver index and pathomorphology were detected and the farnesoid X receptor (FXR) protein expression in liver were determined by immunohistochemistry. The results showed that the low, medium and high dose *Moringa oleifera* seed extract significantly reduced TG, TC and LDL-C levels ( $p < 0.05$ ) and increased HDL-C

收稿日期: 2021-07-13; 修回日期: 2022-03-03

基金项目: 黔科合支撑[2021]一般 410

作者简介: 王宏(1995), 女, 硕士研究生, 研究方向为药物新制剂与新剂型(E-mail) hongwang@zmu.edu.cn.

通信作者: 熊永爱, 副教授, 博士(E-mail) yaxiong@zmu.edu.cn; 徐应淑, 教授(E-mail) 527822816@qq.com.

levels ( $p < 0.01$ ) in serum of hyperlipidemia mice, significantly improved the pathological morphology of liver, markedly reduce the liver pathology score ( $p < 0.01$ ), low dose *Moringa oleifera* seed extract could remarkably reduce the liver index ( $p < 0.05$ ), and low and high dose

*Moringa oleifera* seed extract significantly reduced the FXR protein expression in liver ( $p < 0.05$ ). *Moringa oleifera* seed extract has significant therapeutic effects in hyperlipidemic mice, and its mechanism may be related to the down-regulation of FXR protein expression in liver.

**Key words:** hyperlipidemia; *Moringa oleifera* seed extract; blood lipid; liver; farnesoid X receptor

高脂血症(hyperlipidemia, HLP)是由于脂代谢或转运异常,使血浆中一种或几种脂质高于正常范围的代谢性疾病<sup>[1]</sup>。HLP常表现为高胆固醇血症(含量 $> 230$  mg/100 mL)、高甘油三酯血症(含量 $> 140$  mg/100 mL)或两者兼有的混合型高脂血症<sup>[2-3]</sup>。由于大部分脂质与血浆蛋白结合而在全身运转,故高脂血症常反映于高脂蛋白血症( $\beta$ -脂蛋白 $> 390$  mg/100 mL),其是动脉粥样硬化、心血管疾病和脂肪肝的主要原因。因此,预防和治疗HLP仍然是全球公共卫生面临的巨大挑战。HLP的发病机制复杂,如炎症因子IL-6、TNF- $\alpha$ 、MCP-1等异常升高<sup>[4]</sup>,内质网效应<sup>[5]</sup>,肠道菌群紊乱<sup>[6]</sup>,过度氧化应激<sup>[7]</sup>等均被报道与HLP发病相关。

辣木籽为辣木科(Moringaceae)辣木属(*Moringa adans*)植物辣木树的种子,具有广泛的食用和药用价值<sup>[8-10]</sup>。辣木籽原产于印度,根据《印度阿育吠托药典》中的记载,辣木籽味甘、性凉,具有祛风、利胆、去脂肪、止痛、杀腹虫、润肤、明目、清脑等功效,已有近千年的食用历史。辣木树在热带、亚热带地区均有种植。20世纪初辣木树从缅甸被引种到我国云南省芒市,开始大面积种植,近年来我国长江以南各省区均对其开展了大量种植,其根、茎、花、叶、籽均可入药,目前国内外研究主要聚焦在叶和籽。辣木叶于2012年被我国卫生部批准为新资源食品,近年来其化学成分和生物活性被国内外广泛研究。辣木籽不仅含有丰富的油脂,还含有其他多种天然活性成分,如生物碱、皂苷、单宁、甾体、酚酸、硫代葡萄糖苷、异硫氰酸盐、硫代氨基甲酯、黄酮类化合物和萜类化合物<sup>[11-12]</sup>,具有降低血脂、血糖,增强人体免疫,杀菌,抗氧化,抗病毒等生理功能<sup>[13-14]</sup>。已有的文献报道主要是辣木籽及其油脂营养成分等方面的研究,而尚无关于辣木籽提取物在降脂方面的研究。基于此,本研究建立高脂血症小鼠模型,通过灌胃不同剂量辣木籽提取物,测定血脂指标和肝脏指标的变化,明确辣木籽提取物对高脂血症小鼠模型的降脂作用,为辣木籽提取物的深度开发奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验动物

SPF级KM小鼠60只,体质量18~22 g,雌雄混装,购自长沙市天勤生物技术有限公司,实验动物许可证号为SCXK(湘)2014-0011。

#### 1.1.2 原料与试剂

辣木籽(批号20190808),义乌市启吉食品有限公司;基础饲料、高脂饲料(猪油10%+蔗糖20%+胆固醇2.5%+胆酸钠1%),上海达燊实业有限公司;辛伐他汀片(批号79902-63-9,给药前用双蒸水配制成1 mg/mL的混悬液),成都恒瑞制药有限公司;聚HRP抗兔IgG抗体(货号SP034),北京市索莱宝公司;石油醚(分析纯),成都金山化学试剂有限公司;GF254薄层层析硅胶(化学纯),青岛海洋化工厂分厂;TC试剂盒(货号ARB13130)、TG试剂盒(货号ARB12866)、LDL-C试剂盒(货号ARB13019)、HDL-C试剂盒(货号ARB13211)、小鼠FXR多克隆抗体(货号IMG-30131),艾美捷科技有限公司。

#### 1.1.3 仪器与设备

电子天平,梅特勒-托利多仪器上海有限公司;微量高速离心机,长沙维尔康湘鹰离心机有限公司;KX-21型全自动血清分析仪,日本Sysmex公司;Leica RM2235型病理切片机,德国徕卡公司;CX43型电子显微镜,日本Olympus公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 辣木籽提取物的制备

取1 kg干燥辣木籽,称量后粉碎至细粉,用85%的甲醇回流提取两次,每次1.5 h,合并提取液,减压回收甲醇至干,加入粒径0.165~0.198 mm(80~100目)硅胶拌样,然后用硅胶柱上样,用石油醚进行洗脱,收集洗脱液,减压回收石油醚,即得辣木籽提取物(得率约为15%)。

### 1.2.2 动物分组、造模及给药

将60只SPF级KM小鼠随机分为正常组,模型组,辛伐他汀组(1 mg/kg),辣木籽提取物低(5 mg/kg)、中(10 mg/kg)、高(20 mg/kg)剂量组,每组10只。除正常组饲喂基础饲料外,其余各组小鼠以高脂饲

料连续喂养。实验第 6 周开始,除正常组和模型组外,其余各组小鼠灌胃相应药物,每日 1 次,连续 3 周。正常组和模型组灌胃相同体积蒸馏水。实验最后 1 d,各组小鼠眼球取血,用装有抗凝剂 EDTA - Na<sub>2</sub> 的 EP 管收集,再于 3 000 r/min 离心 10 min,收集上清液(血清),在 -20℃ 冷冻保存,待测。而后断颈处死小鼠,剖取肝脏,生理盐水冲洗,称其质量。取部分肝脏组织固定在 4% 多聚甲醛中,剩余肝脏组织保存于液氮中,待测。

### 1.2.3 小鼠体质量测定

分别于实验第 1、2、3、4、5、6、7、8 周称取各组小鼠体质量,并观察给药后各组小鼠体质量变化。

### 1.2.4 血清生化指标测定

用全自动血清分析仪测定各实验组小鼠血清 TC、TG、HDL - C、LDL - C 水平。

### 1.2.5 肝脏指数测定

采血结束后,称量小鼠体质量;断颈处死各实验组小鼠,剖取肝脏,生理盐水冲洗,称量肝脏质量。计算肝脏指数(肝脏指数为肝脏质量占小鼠体质量的比例)。

### 1.2.6 病理形态学观察

切取各实验组小鼠相同部位的部分肝脏组织于 10% 中性甲醛固定 48 h,经梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋、切片后,采用 HE 染色法进行肝脏病理形态学观察,并对其病理评分<sup>[15]</sup>:肝细胞形态整齐,肝细胞索排列整齐,无炎症细胞浸润等病理改变,为 0 分;肝细胞索排列紊乱,偶见脂滴空泡,有轻微的炎性细胞浸润,为 1 分;肝细胞有轻度肿胀,较多脂滴空泡或炎性细胞浸润,为 2 分;肝窦消失,肝细胞重度肿胀,有大量脂滴空泡或炎性浸润,为 3 分;肝细胞大面积空泡样病变并有炎性坏死,为 4 分。

### 1.2.7 肝脏组织 FXR 蛋白表达

采用免疫组化法对各组小鼠肝脏法尼酯 X 受体(FXR)蛋白表达进行检测。采用 4% 多聚甲醛固定的小鼠肝脏,对其进行包埋,制成石蜡切片。经脱蜡、水化,并进行抗原热修复,消除内源性过氧化物酶和碱性磷酸酶活性后,用小鼠 FXR 多克隆抗体在 4℃ 以 1:200 稀释,一抗孵育过夜。随后按照试剂盒说明书进行检测,用 PV - 9002 两步法和聚 HRP 抗兔 IgG 抗体检测 FXR 蛋白的表达。最后在光学显微镜下观察拍照,应用 Image J 图像分析软件进行分析,每张切片随机选取 5 个视野,每个视野内观察 100 个细胞,若阳性细胞不小于 10% 判定为阳性,否则为阴性,并计算各实验组小鼠肝细胞 FXR

的平均光密度值(AOD)。

### 1.2.8 统计学处理

用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。数据采用“平均值 ± 标准差”表示,各组间采用单因素方差分析,方差齐者组间进行 LSD 检验,方差不齐者进行 Tamhane's T2 检验,以  $p < 0.05$  为具有统计学意义,并以 GraphPad Prism 6.0 对数据进行分析作图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 辣木籽提取物对高脂血症小鼠体质量的影响(见图 1)

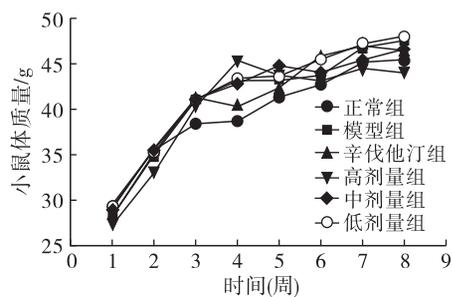
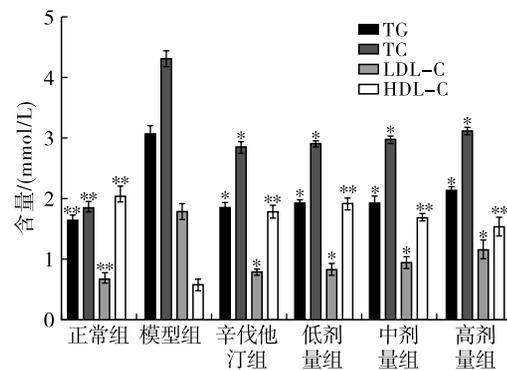


图 1 辣木籽提取物对高脂血症小鼠体质量的影响

整个实验周期内,各组小鼠生长状况均良好。由图 1 可以看出,实验第 8 周,辣木籽提取物中、高剂量组和辛伐他汀组小鼠体质量较模型组有所减轻,但差异不显著。

### 2.2 辣木籽提取物对高脂血症小鼠血清生化指标的影响(见图 2)



注:与模型组比较,\*为  $p < 0.05$ ,\*\*为  $p < 0.01$ 。下同

图 2 辣木籽提取物对高脂血症小鼠血清生化指标的影响

由图 2 可知,与正常组比较,模型组小鼠血清 TC、TG、LDL - C 水平均极显著升高( $p < 0.01$ ),HDL - C 水平极显著降低( $p < 0.01$ ),说明造模成功。与模型组比较,辛伐他汀组及辣木籽提取物各剂量组小鼠 TC、TG、LDL - C 水平均显著降低( $p < 0.05$ ),HDL - C 水平极显著升高( $p < 0.01$ )。结果表明,不同剂量的辣木籽提取物能明显改善高脂血症模型小鼠血清中脂代谢异常的常见生化指标。

### 2.3 辣木籽提取物对高脂血症小鼠肝脏指数的影响(见图3)

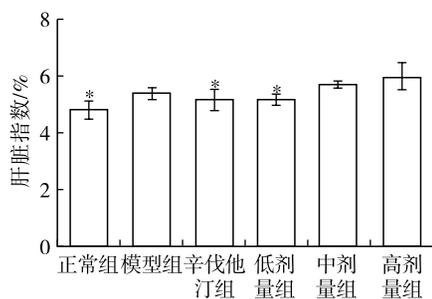
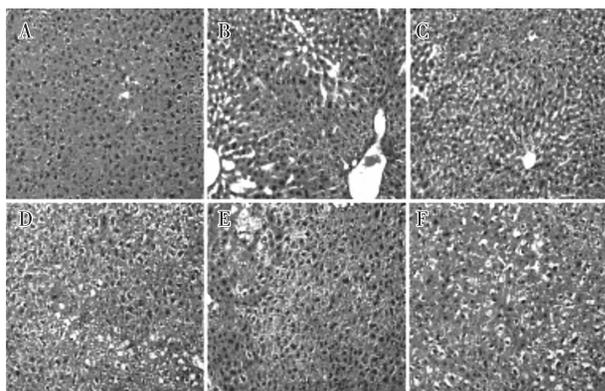


图3 辣木籽提取物对高脂血症小鼠肝脏指数的影响

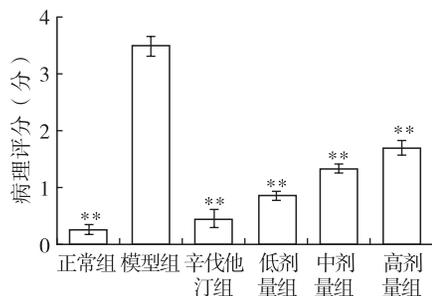
由图3可知,与正常组比较,模型组的肝脏指数显著升高( $p < 0.05$ )。与模型组比较,辣木籽提取物低剂量组及辛伐他汀组的肝脏指数显著降低( $p < 0.05$ )。辣木籽提取物不同剂量之间对比发现,低剂量降低肝脏指数的效果更加明显。结果表明,低剂量的辣木籽提取物具有显著降低高脂血症小鼠肝脏指数的作用( $p < 0.05$ )。

### 2.4 辣木籽提取物对高脂血症小鼠肝脏组织病理形态学及病理评分的影响(见图4~图5)



注:A.正常组;B.模型组;C.辛伐他汀组;D.低剂量组;E.中剂量组;F.高剂量组。下同

图4 辣木籽提取物对高脂血症小鼠肝脏组织病理形态学的影响(HE,200×)



注:与模型组比较,\*\*为 $p < 0.01$

图5 辣木籽提取物对高脂血症小鼠肝脏组织病理评分的影响

由图4可知,正常组小鼠肝脏组织形态学正常,

肝细胞胞质丰富,大小均匀,染成蓝色的细胞核清晰可见,肝细胞索呈放射状排列,肝细胞未见病理变化。模型组小鼠肝细胞索排列紊乱,呈肝弥漫性脂肪病变,表现为肝细胞内有大量脂滴空泡,肝细胞出现肿胀呈气球样变,并有炎性细胞浸润。与模型组相比,辛伐他汀组和辣木籽提取物高、中、低剂量组小鼠肝脏组织气球样变和肿胀程度明显减轻,肝细胞炎症灶减少,范围明显缩小。结果表明,辣木籽提取物对高脂血症介导的肝脏脂肪病变具有一定的改善作用。

由图5可知,与模型组相比,辣木籽提取物低、中、高剂量组小鼠肝脏组织病理评分极显著降低( $p < 0.01$ ),病理评分由高到低依次为模型组 > 辣木籽提取物(高、中、低剂量)组 > 辛伐他汀组 > 正常组。不同剂量辣木籽提取物对比发现,低剂量辣木籽提取物降低小鼠肝脏组织病理评分的效果更加明显。结果表明,辣木籽提取物具有极显著降低高脂血症小鼠肝脏病理评分的作用。

### 2.5 辣木籽提取物对高脂血症小鼠肝脏组织 FXR 蛋白表达的影响(见图6~图7)

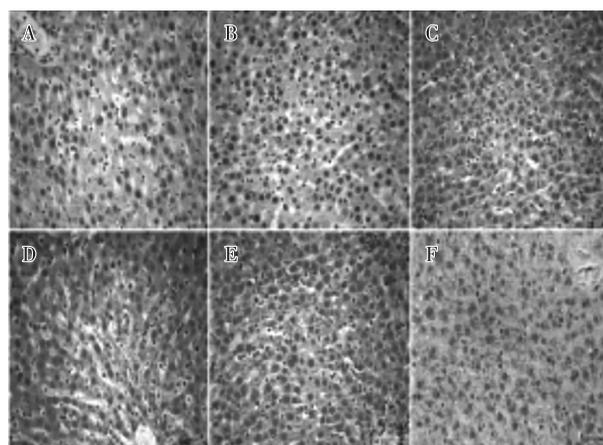


图6 辣木籽提取物对高脂血症小鼠肝脏组织 FXR 蛋白表达的影响(IHC,200×)

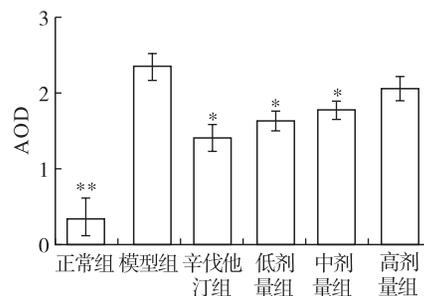


图7 辣木籽提取物对高脂血症小鼠肝脏组织 FXR 蛋白表达的影响

FXR 是胆汁酸(Bile acids, BA)反应性配体激活的转录因子,是核受体超家族的成员<sup>[16]</sup>。FXR 蛋白

在控制 BA 动态平衡中起关键作用,是 BA 稳态的主要调节因子<sup>[17]</sup>。此外,小异源二聚体伴侣(SHP)是一种受 FXR 直接调节的转录阻遏物,通过 FXR - SHP 信号转导抑制胆固醇-7 $\alpha$ -羟化酶(CYP7A1)表达<sup>[18]</sup>,而胆固醇-7 $\alpha$ -羟化酶可催化胆固醇分解为 BA,最终导致 BA 合成减少。FXR 被证明可通过多种途径参与调节胆固醇稳态、脂质代谢和糖代谢,参与一系列代谢性疾病如高脂血症、2 型糖尿病等的发生发展。因此,抑制 FXR 蛋白的活性或表达能促进体内胆固醇的分解代谢,从而调节脂代谢紊乱。

肝脏组织中 FXR 蛋白出现褐色染色颗粒为阳性细胞。由图 6、图 7 可知,与正常组相比,模型组小鼠肝细胞中阳性细胞增加,平均光密度值极显著增大( $p < 0.01$ )。与模型组比较,辣木籽提取物低、中剂量组小鼠肝脏组织中阳性细胞减少,平均光密度值显著降低( $p < 0.05$ ),而辣木籽提取物高剂量组小鼠肝脏组织中阳性细胞数及平均光密度值与模型组比较无显著差异。以上结果表明,一定剂量的辣木籽提取物可不同程度地下调 FXR 蛋白表达,进而促进体内胆固醇的分解代谢,调节血清中脂质水平,这可能是辣木籽提取物产生调节血脂作用的潜在靶点。

### 3 结论

通过研究辣木籽提取物对高脂血症小鼠血脂及肝脏的影响发现,低剂量辣木籽提取物能显著改善高脂血症小鼠模型血清中常见生化指标的脂代谢异常及肝脏指数,同时显著下调小鼠肝脏组织 FXR 蛋白表达,说明一定剂量的辣木籽提取物对高脂饮食诱导的小鼠高脂血症具有良好的防治作用,可有效降低高脂血症小鼠血脂水平,并对其肝脏具有明显的保护作用。

### 参考文献:

[1] STEWART J, MCCALLIN T, YUSUF S, et al. Hyperlipidemia [J]. *Pediatr Rev*, 2020, 41(8): 393 - 402.  
 [2] 马利英. 他汀类药物的相关不良反应及非心血管作用研究进展[J]. *中国医药指南*, 2018, 16(4): 8 - 9.  
 [3] PAN X F, WANG L, PAN A. Epidemiology and determinants of obesity in China [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2021, 9(6): 373 - 392.  
 [4] TUZCU Z, ORHAN C, SAHIN N, et al. Cinnamon polyphenol extract inhibits hyperlipidemia and inflammation by modulation of transcription factors in high - fat diet - fed rats [J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017; 1583098 [2021 - 07 - 13]. <https://doi.org/10.1155/2017/1583098>.

[5] SOZEN E, OZER N K. Impact of high cholesterol and endoplasmic reticulum stress on metabolic diseases: an updated mini - review [J]. *Redox Biol*, 2017, 12: 456 - 461.  
 [6] 田也, 麦旭东, 谢黎炜, 等. 肠道菌群调控代谢性疾病发生和发展[J]. *科学通报*, 2021, 66(13): 1602 - 1613.  
 [7] ARORA M K, SARUP Y, KUMAR P, et al. Amelioration of diabetes - induced diabetic nephropathy by *Aloe vera*: implication of oxidative stress and hyperlipidemia [J]. *J Diet Suppl*, 2019, 16(2): 227 - 244.  
 [8] 何绍芳, 李依潇, 何琳惠, 等. 高脂血症非药物治疗研究概况[J]. *医学综述*, 2015, 21(10): 1794 - 1796.  
 [9] SPENCE J D. Nutrition and risk of stroke [J/OL]. *Nutrients*, 2019, 11(3): 647 [2021 - 07 - 13]. <https://doi.org/10.3390/nu11030647>.  
 [10] KARR S. Epidemiology and management of hyperlipidemia [J]. *Am J Manag Care*, 2017, 23( Suppl 9): S139 - S148.  
 [11] 樊建麟, 邵金良, 叶艳萍, 等. 辣木籽营养成分含量测定 [J]. *中国食物与营养*, 2016, 22(5): 69 - 72.  
 [12] LEONE A, SPADA A, BATTEZZATI A, et al. *Moringa oleifera* seeds and oil: characteristics and uses for human health [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12): 2141 [2021 - 07 - 13]. <https://doi.org/10.3390/ijms17122141>.  
 [13] LEONE A, SPADA A, BATTEZZATI A, et al. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa*: an overview [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(6): 12791 - 12835.  
 [14] ISHOLA I O, YEMITAN K O, AFOLAYAN O O, et al. Potential of *Moringa oleifera* in the treatment of benign prostate hyperplasia: role of antioxidant defence systems [J]. *Med Princ Pract*, 2018, 27(1): 15 - 22.  
 [15] 付兆媛, 马承旭. 当归多糖对顺铂化疗 H22 腹水瘤小鼠所致肝脏损伤的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2018, 34(3): 68 - 72.  
 [16] 曾胜澜, 王娜, 张荣臻, 等. 肝再生中胆汁酸的作用机制研究进展 [J/OL]. *海南医学院学报*, 2021; 1 - 8 [2021 - 07 - 13]. <https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20210108.001>.  
 [17] YU L, LU H F, YANG X F, et al. Diosgenin alleviates hypercholesterolemia via SRB1/CES - 1/CYP7A1/FXR pathway in high - fat diet - fed rats [J/OL]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2021, 412: 115388 [2021 - 07 - 13]. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2020.115388>.  
 [18] LI G D, GUO J. Farnesoid X receptor, the bile acid sensing nuclear receptor, in liver regeneration [J]. *Acta Pharmaceut Sinica B*, 2015, 5(2): 93 - 98.