补阳还五汤及其有效部位改善非酒精性脂肪性肝病的作用及机制研究Δ

杨金彪*，陈星彤，周云越，杨蕊红，王　乔，薛　爽，张玉昆，牛雯颖#（黑龙江中医药大学基础医学院，哈尔滨 150040）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2026）03-0299-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2026.03.05

摘　要　目的　研究补阳还五汤（BYHWD）及其有效部位改善非酒精性脂肪性肝病的作用及机制。**方法**　制备BYHWD及其醇沉、30%乙醇、50%乙醇、75%乙醇有效部位（即CC、30YC、50YC、75YC有效部位），以此灌胃大鼠并制备相应含药血清（同法制备空白血清和辛伐他汀含药血清）。将人L02肝细胞分为对照组、模型组、辛伐他汀含药血清组、BYHWD含药血清组、CC含药血清组、30YC含药血清组、50YC含药血清组、75YC含药血清组。除对照组外，其余各组均加入0.2 mol/L油酸诱导24 h，以建立脂质沉积模型，再加入相应20%含药血清/空白血清干预24 h。观察细胞中脂质沉积情况，并计算脂滴面积占比；检测细胞中甘油三酯（TG）及氧化应激[丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）]、肝功能[丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）]指标水平；检测细胞中AMP活化的蛋白质激酶（AMPK）/固醇调节元件结合蛋白1（SREBP-1）/甘油-3-磷酸酰基转移酶（GPAT）信号通路相关蛋白及mRNA表达水平。**结果**　与对照组比较，模型组细胞脂肪变性严重，细胞中脂滴面积占比以及TG、ALT、AST、MDA水平和SREBP-1、GPAT mRNA及其蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$），细胞中SOD水平、AMPK mRNA表达水平和AMPK蛋白磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，各含药血清组细胞脂肪变性均减轻，上述大部分定量指标水平均被显著逆转（$P<0.05$）。**结论**　BYHWD及其有效部位可通过调控AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路，抑制氧化应激反应，减轻脂质沉积，从而发挥改善非酒精性脂肪性肝病的作用。

关键词　补阳还五汤；非酒精性脂肪性肝病；脂质沉积；AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路；氧化应激

Ameliorative effects and mechanisms of Buyang huanwu decoction and its active fractions on non-alcoholic fatty liver disease

YANG Jinbiao, CHEN Xingtong, ZHOU Yunyue, YANG Ruihong, WANG Qiao, XUE Shuang, ZHANG Yukun, NIU Wenying (School of Basic Medical Sciences, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects and mechanisms of Buyang huanwu decoction (BYHWD) and its active fractions in ameliorating non-alcoholic fatty liver disease. **METHODS** BYHWD and its effective fractions obtained through ethanol precipitation, as well as 30% ethanol, 50% ethanol, and 75% ethanol fractions (namely, the CC effective fraction, 30YC effective fraction, 50YC effective fraction, and 75YC effective fraction), were prepared. These preparations were administered to rats via intragastric administration to prepare corresponding drug-containing serum (blank serum and simvastatin-containing serum were prepared using the same protocol). Human L02 hepatocytes were divided into control group, model group, simvastatin-containing serum group, BYHWD-containing serum group, CC-containing serum group, 30YC-containing serum group, 50YC-containing serum group, and 75YC-containing serum group. Except for the control group, other groups were given 0.2 mol/L oleic acid for 24 h to induce a lipid accumulation model, and then intervened with 20% drug-containing serum/blank serum for 24 h. The lipid deposition in cells was observed, and the proportion of lipid droplet area was calculated; the levels of triglycerides (TG) and indicators of oxidative stress [malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD)] as well as liver function [alanine amino-transferase (ALT), aspartate amino-transferase (AST)] in cells were detected; protein and mRNA expressions of AMP-activated protein kinase (AMPK)/sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1)/glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) signaling pathway were also measured. **RESULTS** Compared with the control group, cells in the model group exhibited severe cellular steatosis, with a significantly

Δ**基金项目** 国家自然科学基金项目（No.82274405）

＊**第一作者** 硕士研究生。研究方向：中药药理学。E-mail：2802157592@qq.com

＃**通信作者** 研究员，博士，硕士生导师。研究方向：中药药理学。E-mail：nwy012603001@126.com

increased proportion of lipid droplet area, as well as the elevated levels of TG, ALT, AST, and MDA in cells, along with significantly up-regulated mRNA and protein expression levels of SREBP-1 and GPAT ($P<0.05$). The level of SOD, mRNA expression of AMPK, as well as the protein phosphorylation level of AMPK were decreased significantly ($P<0.05$). Compared with the model group, cellular steatosis was alleviated in all drug-containing serum groups, and the levels of most of the aforementioned quantitative indicators were significantly reversed ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** BYHWD and its active fractions can exert a therapeutic effect on improving non-alcoholic fatty liver disease by regulating the AMPK/SREBP-1/GPAT signaling pathway, inhibiting oxidative stress responses, and reducing lipid deposition.

KEYWORDS Buyang huanwu decoction; non-alcoholic fatty liver disease; lipid deposition; AMPK/SREBP-1/GPAT signaling pathway; oxidative stress

非酒精性脂肪性肝病（non-alcoholic fatty liver disease，NAFLD）是全球最常见的慢性肝病之一，其发病机制涉及多种代谢途径的紊乱，包括脂质代谢异常、胰岛素抵抗等[1-2]。当肝脏脂质蓄积达到一定程度时，NAFLD可进展为非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化、肝硬化等更为严重的病理状态，甚至会诱发部分患者进展至肝癌，严重威胁人类健康[3]。然而，目前临床尚无专门针对NAFLD的特效药物。

中医认为，NAFLD的形成与脾失健运、肝失疏泄、肾气亏虚密切相关；脾失健运则痰湿内生，肝失疏泄则气滞血瘀，肾气亏虚则清浊不分，三者共同构成NAFLD的核心病机[4]。中药因其多成分、多靶点的特点和较少的副作用，在NAFLD治疗中表现出巨大的应用潜力，其中中药复方也在NAFLD治疗中日益受到关注[5-6]。补阳还五汤（Buyang huanwu decoction，BYHWD）是一种经典的传统中药复方，出自清代《医林改错》，由黄芪、当归、赤芍、红花、川芎、桃仁和地龙组成，具有益气活血、祛瘀通络等功效[7]。相关研究表明，BYHWD对代谢性疾病有潜在的益处[8]，如其对脂肪肝具有改善作用[9]。本课题组前期研究也发现，BYHWD及其有效部位对高胆固醇血症小鼠的脂质水平具有改善作用[10]。

AMP活化的蛋白质激酶（AMP-activated protein kinase，AMPK）作为关键能量传感器，其被激活后可通过双重机制调控脂质代谢稳态：一方面可抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路，降低脂肪细胞定向分化因子固醇调节元件结合蛋白1（sterol regulatory element-binding protein-1，SREBP-1）的表达，减少SREBP-1与甘油-3-磷酸酰基转移酶（glycerol-3-phosphate acyltransferase，GPAT）基因启动子区固醇调节元件的结合，从而抑制脂肪酸合成和甘油三酯（triglyceride，TG）生成；另一方面可直接磷酸化SREBP-1，抑制其核转移及转录活性，从而减少肝脏脂质沉积[11-13]。研究发现，AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路在脂质代谢平衡中发挥重要作用，与NAFLD的发病机制密切相关[14-15]。然而，BYHWD是否可通过调控AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路发挥改善NAFLD的作用尚不明确。基于此，本研究拟先制备BYHWD及其醇沉有效部位（即CC有效部位）和30%、50%、75%乙醇洗脱部位（即30YC、50YC、75YC有效部位），并以此制备相应的含药血清；然后以人L02肝细胞为研究对象，基于AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路探讨BYHWD及其有效部位对NAFLD的改善作用及机制，以期为临床应用BYHWD治疗NAFLD提供实验基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有IX73型倒置显微镜（日本Olympus公司）、CO_2培养箱[力新仪器（上海）有限公司]、Infinite 200 PRO型酶标仪（瑞士Tecan公司）、HT7700型透射电子显微镜（日本Hitachi公司）、HYQ-2121A型涡旋器（美国Crystal公司）、MIKRO 220R型低温高速离心机（德国Hettich公司）、Amersham Imager 600型凝胶成像系统（美国General Electric公司）、CFX384型聚合酶链式反应（PCR）仪（美国Bio-Rad公司）。

1.2 主要药品与试剂

黄芪、当归、川芎、赤芍、桃仁、红花、地龙药材（批号分别为220101-X、231201、20220902、230801、230301、240301、20230801）均购自黑龙江中医药大学附属第一医院，经黑龙江中医药大学药学院吴军凯副教授鉴定均为真品。辛伐他汀片（批号T020243，规格20 mg）购自杭州默沙东制药有限公司；RPMI 1640培养基（批号MA0215-NOV-04H）购自大连美仑生物技术有限公司；TG、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）、丙氨酸氨基转移酶（alanine amino-transferase，ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（aspartate amino-transferase，AST）试剂盒（批号分别为20221020、20240124、20240125、20231205、20231204）均购自南京建成生物工程研究所有限公司；油红O染色试剂盒（批号20220720）购自北京索莱宝科技有限公司；Serviceio动物组织/细胞总RNA提取试剂盒（批号MPC2308027）购自武汉塞维尔生物科技有限公司；兔抗

AMPK、磷酸化AMPK（p-AMPK）、SREBP-1、GPAT、β-肌动蛋白（β-actin）单克隆抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗（批号分别为BB07045674、BB08185715、BB09304011、BB06297006、AH11286403、BA12163708）均购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为健康清洁级雄性SD大鼠，共42只，体重（200±20）g，购自辽宁长生生物技术股份有限公司，实验动物生产许可证号为SCXK（辽）2020-0001。本研究中动物实验已获黑龙江中医药大学实验动物伦理委员会批准，伦理审查批号为2024053104。

1.4 细胞

人L02肝细胞购自大连美仑生物技术有限公司。

2 方法

2.1 BYHWD及其有效部位的制备

按BYHWD处方称取各药材适量，加入10倍量水煎煮1.5 h，收集滤液；继续向药渣中加入8倍量水煎煮1 h，合并2次滤液，最后浓缩成质量浓度为1.43 g/mL（以生药量计）的BYHWD药液，备用。取上述药液500 mL，加入无水乙醇适量，采用水提醇沉法进行提取[16]。取醇沉部位，经旋转蒸发除去残留溶剂后，冷冻干燥成粉末（即CC有效部位，得率为4.488%）；取上清液，通过减压蒸馏法去除其中的乙醇，得乙醇部位浓缩液。将乙醇部位浓缩液用AB-8型大孔吸附树脂柱进行分离，具体分离条件如下：将乙醇部位浓缩液以3 mL/min的流速通过大孔吸附树脂柱，动态吸附2 h，再分别用30%、50%、75%乙醇以3 mL/min的流速进行梯度洗脱，收集不同浓度乙醇洗脱液，经减压蒸馏法去除洗脱液中的乙醇后，冻干成粉末（即30YC、50YC、75YC有效部位，得率分别为0.987%、0.603%、0.138%）。

2.2 BYHWD及其有效部位含药血清的制备

将大鼠适应性饲养1周后，随机分为正常组（纯水）、辛伐他汀组（阳性对照组，2 mg/kg，根据临床等效剂量换算）、BYHWD组[14 g/kg（以生药量计），根据临床等效剂量换算]、CC组（0.63 g/kg，以BYHWD的等效剂量14 g/kg乘以该部位得率作为给药剂量，下同）、30YC组（0.138 g/kg）、50YC组（0.084 g/kg）、75YC组（0.019 g/kg），每组6只。各组大鼠灌胃相应药液/纯水，每天早晚各1次，连续5 d。末次给药后次日，各组大鼠使用乌拉坦进行麻醉，然后腹主动脉取血，将血样以3 000 r/min离心10 min，取上层血清以0.22 μm微孔滤膜过滤，即得含药血清/空白血清。将血清置于−80 ℃条件下保存，备用。

2.3 细胞培养

将L02细胞复苏后，将其接种在含有10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的RPMI 1640培养基中，然后置于37 ℃、5%CO_2恒温培养箱中培养。待细胞融合度达80%～90%时，进行传代或铺板操作。

2.4 细胞分组、造模与给药

将L02细胞以5×10^4个/孔接种于24孔板中（或以1.4×10^5个/孔接种于6孔板中），然后分为对照组、模型组、辛伐他汀含药血清组、BYHWD含药血清组、CC含药血清组、30YC含药血清组、50YC含药血清组、75YC含药血清组，每组设3个复孔。除对照组外，其余各组细胞均加入0.2 mol/L油酸诱导24 h，以建立脂质沉积模型（以模拟NAFLD的病理状态）；各组再加入相应20%含药血清/空白血清干预24 h。

2.5 细胞中脂质沉积情况观察

将L02细胞按“2.4”项下方法分组、造模与给药（接种于24孔板中），干预24 h后，收集细胞。以磷酸盐缓冲液清洗细胞2次，根据油红O染色试剂盒说明书方法进行染色（阳性染色呈红色样脂滴）。采用显微镜观察各组细胞形态并拍照。利用Image J软件对细胞中脂滴面积进行定量分析，并计算脂滴面积占比（脂滴面积占比＝脂滴面积/视野总面积×100%）。

2.6 细胞中TG及氧化应激、肝功能指标水平检测

将L02细胞按“2.4”项下方法分组、造模与给药（接种于24孔板中），干预24 h后，收集细胞。根据试剂盒说明书方法操作，检测细胞中TG及氧化应激（MDA、SOD）、肝功能（ALT、AST）指标水平。

2.7 细胞中AMPK、SREBP-1、GPAT mRNA表达检测

将L02细胞按“2.4”项下方法分组、造模与给药（接种于6孔板中），干预24 h后，收集细胞。根据相应试剂盒说明书方法提取细胞中总RNA，验证其浓度和纯度后，将其逆转录为cDNA，并以cDNA为模板，进行PCR扩增。PCR扩增体系为：2×Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix 10 μL，上、下游引物各0.4 μL，cDNA模板1 μL，无酶水8.2 μL。扩增条件为：95 ℃预变性30 s；95 ℃变性15 s，60 ℃退火/延伸30 s，共40次循环。以GAPDH为内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算细胞中AMPK、SREBP-1、GPAT mRNA表达水平。PCR引物由武汉塞维尔生物科技有限公司设计并合成，具体序列及扩增产物长度见表1。

表1 PCR引物序列及扩增产物长度

基因	引物序列	扩增产物长度/bp
GAPDH	上游：5′-GGAAGCTTGTCATCAATGGAAATC-3′	168
	下游：5′-TGATGACCCTTTTGGCTCCC-3′	
AMPK	上游：5′-GAATCCGAAGTCAGAGCAAACC-3′	253
	下游：5′-GAACGCTGAGGTGTTGAGGAA-3′	
SREBP-1	上游：5′-CACCGTTTCTTCGTGGATGG-3′	197
	下游：5′-GAGAATTCCTTGTCCCCATCAG-3′	
GPAT	上游：5′-TCTTTGCGTGGGCTACCTT-3′	156
	下游：5′-CCAGAGCCTTACTACTACCACTTCG-3′	

2.8 细胞中p-AMPK、AMPK、SREBP-1、GPAT蛋白表达检测

将L02细胞按“2.4”项下方法分组、造模与给药（接种于6孔板中），干预24 h后，收集细胞。向细胞中加入裂解液裂解15 min以提取细胞中总蛋白，采用BCA法测定蛋白浓度后，将蛋白进行变性处理，然后取变性蛋白适量，上样进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳；经转膜、封闭后，加入p-AMPK、AMPK、SREBP-1、GPAT、β-actin一抗（稀释度分别为1∶1 800、1∶1 200、1∶1 800、1∶1 000），于4 ℃条件下孵育过夜；次日加入二抗（稀释度为1∶5 000），室温孵育2 h。滴加ECL发光液进行显影，然后采用凝胶成像系统成像，并使用Image J软件分析蛋白条带灰度值。以目的蛋白与内参蛋白（β-actin）条带的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平；以p-AMPK与AMPK蛋白表达水平的比值，表示AMPK蛋白的磷酸化水平。

2.9 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析。数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步组间两两比较采用Tukey’s检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 BYHWD及其有效部位对细胞中脂质沉积的影响

如图1所示，与对照组[脂滴面积占比为（1.80±0.07）%]比较，模型组细胞脂肪变性严重，细胞中脂滴面积占比[（10.64±0.13）%]显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，辛伐他汀含药血清组、BYHWD含药血清组、CC含药血清组、30YC含药血清组、50YC含药血清组、75YC含药血清组细胞脂肪变性减轻，细胞中脂滴面积占比[分别为（3.19±0.12）%、（3.87±0.15）%、（4.96±0.11）%、（2.06±0.14）%、（2.43±0.11）%、（3.55±0.11）%]均显著降低（$P<0.05$）。

3.2 BYHWD及其有效部位对细胞中TG及氧化应激、肝功能指标的影响

如表2所示，与对照组比较，模型组细胞中TG、ALT、AST、MDA水平均显著升高（$P<0.05$），SOD水平显著降低（$P<0.05$）；与模型组比较，各含药血清组细胞中TG、AST、MDA水平均显著降低（$P<0.05$），辛伐他汀含药血清组、BYHWD含药血清组、CC含药血清组细胞中SOD水平均显著升高（$P<0.05$）；与BYHWD含药血清组比较，75YC含药血清组细胞中TG水平以及CC含药血清组、30YC含药血清组、50YC含药血清组、75YC含药血清组细胞中MDA水平均显著降低（$P<0.05$）。

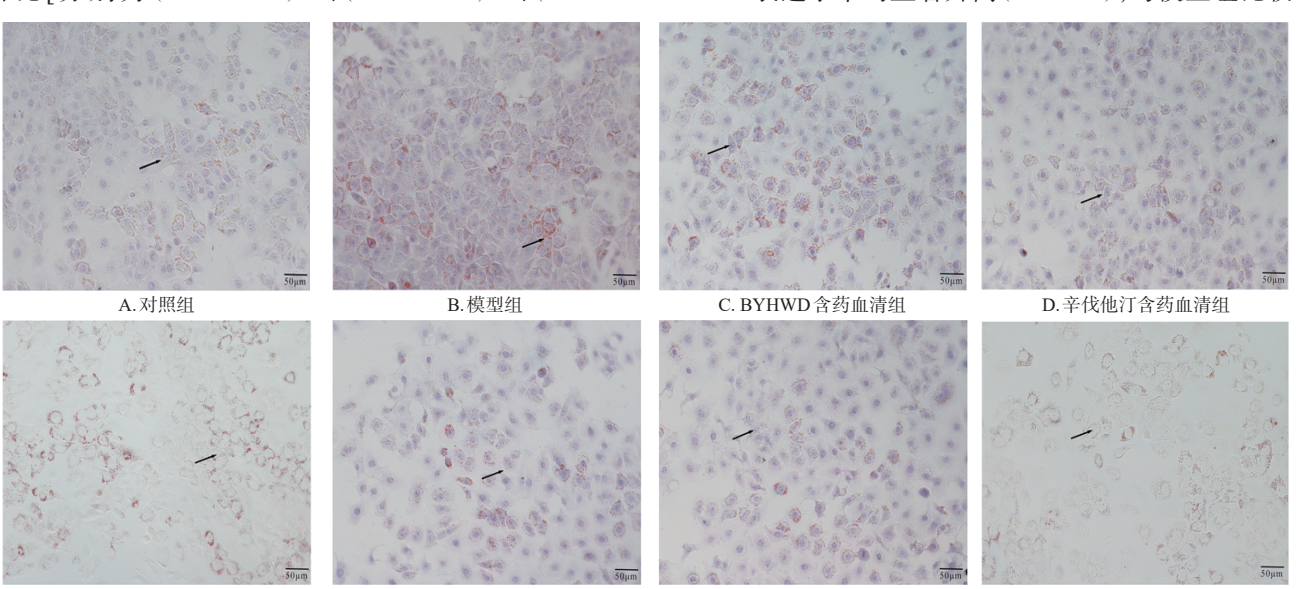
表2 各组细胞中TG及氧化应激、肝功能指标水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	TG/（μmol/g prot）	ALT/（U/g prot）	AST/（U/g prot）	SOD/（U/mg prot）	MDA/（mmol/g prot）
对照组	49.43±3.75	3.01±0.66	24.48±2.97	8.33±0.34	1.29±0.06
模型组	116.05±7.75[a]	5.60±0.96[a]	28.34±1.49[a]	6.89±0.06[a]	6.99±0.32[a]
辛伐他汀含药血清组	70.66±12.58[b]	3.95±0.61	16.39±2.96[b]	7.70±0.17[b]	3.51±1.43[b]
BYHWD含药血清组	87.32±10.45[b]	5.73±0.74	20.16±0.81[b]	7.62±0.26[b]	3.92±0.85[b]
CC含药血清组	83.78±5.52[b]	5.83±0.41	21.46±1.20[b]	7.73±0.12[b]	0.85±0.12[bc]
30YC含药血清组	89.60±1.01[b]	5.01±0.35	21.44±2.27[b]	6.89±0.05	2.57±0.04[bc]
50YC含药血清组	90.08±8.95[b]	5.66±0.87	20.89±2.02[b]	6.98±0.02	0.95±0.09[bc]
75YC含药血清组	71.09±5.49[bc]	3.88±0.49	21.84±2.78[b]	7.14±0.07	0.53±0.13[bc]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与BYHWD含药血清组比较，$P<0.05$。

3.3 BYHWD及其有效部位对细胞中AMPK、SREBP-1、GPAT mRNA表达的影响

如表3所示，与对照组比较，模型组细胞中AMPK mRNA表达水平显著降低（$P<0.05$），SREBP-1、GPAT mRNA表达水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，



A. 对照组　B. 模型组　C. BYHWD含药血清组　D. 辛伐他汀含药血清组

E. CC含药血清组　F. 30YC含药血清组　G. 50YC含药血清组　H. 75YC含药血清组

注：黑色箭头所指为脂滴形成。

图1 各组细胞中脂质沉积情况观察结果（油红O染色）

各含药血清组细胞中AMPK mRNA表达水平均显著升高（$P<0.05$），SREBP-1、GPAT mRNA表达水平均显著降低（$P<0.05$）。

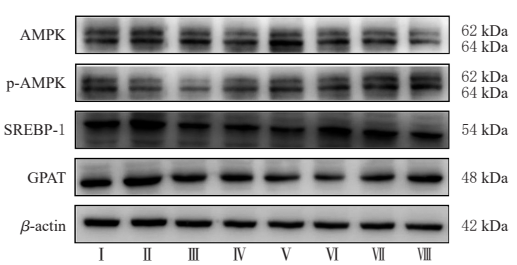
表3　各组细胞中AMPK、SREBP-1、GPAT mRNA表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	AMPK mRNA	SREBP-1 mRNA	GPAT mRNA
对照组	1.08±0.03	0.94±0.04	0.90±0.03
模型组	0.90±0.04[a]	1.07±0.10[a]	1.12±0.03[a]
辛伐他汀含药血清组	1.19±0.05[b]	0.94±0.04[b]	0.90±0.03[b]
BYHWD含药血清组	1.23±0.06[b]	0.96±0.02[b]	0.95±0.01[b]
CC含药血清组	1.10±0.04[b]	0.95±0.07[b]	0.87±0.09[b]
30YC含药血清组	1.10±0.05[b]	0.94±0.01[b]	0.92±0.03[b]
50YC含药血清组	1.08±0.05[b]	0.95±0.05[b]	0.95±0.01[b]
75YC含药血清组	1.12±0.07[b]	0.96±0.08[b]	0.88±0.07[b]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$。

3.4　BYHWD及其有效部位对细胞中p-AMPK、AMPK、SREBP-1、GPAT蛋白表达的影响

如图2、表4所示，与对照组比较，模型组细胞中AMPK蛋白的磷酸化水平显著降低（$P<0.05$），SREBP-1、GPAT蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，各含药血清组细胞中AMPK蛋白的磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$），SREBP-1、GPAT蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）；与BYHWD含药血清组比较，50YC含药血清组、75YC含药血清组细胞中AMPK蛋白的磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$），CC含药血清组、30YC含药血清组、75YC含药血清组细胞中GPAT蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。



Ⅰ：对照组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：辛伐他汀含药血清组；Ⅳ：BYHWD含药血清组；Ⅴ：CC含药血清组；Ⅵ：30YC含药血清组；Ⅶ：50YC含药血清组；Ⅷ：75YC含药血清组。

图2　各组细胞中AMPK、p-AMPK、SREBP-1、GPAT蛋白表达的电泳图

表4　各组细胞中AMPK蛋白的磷酸化水平及SREBP-1、GPAT蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	p-AMPK/AMPK	SREBP-1/β-actin	GPAT/β-actin
对照组	0.78±0.03	0.92±0.02	0.90±0.02
模型组	0.48±0.02[a]	1.01±0.01[a]	1.10±0.03[a]
辛伐他汀含药血清组	0.53±0.01[b]	0.78±0.02[b]	0.90±0.02[b]
BYHWD含药血清组	0.83±0.04[b]	0.90±0.02[b]	1.02±0.02[b]
CC含药血清组	0.71±0.01[b]	0.77±0.02[b]	0.86±0.02[bc]
30YC含药血清组	0.82±0.01[b]	0.97±0.01[b]	0.75±0.01[bc]
50YC含药血清组	1.00±0.04[bc]	0.94±0.03[b]	1.00±0.02[b]
75YC含药血清组	1.48±0.04[bc]	0.71±0.03[b]	0.95±0.03[bc]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与BYHWD含药血清组比较，$P<0.05$。

4　讨论

NAFLD是全球范围内发病率最高的慢性肝脏疾病之一，其核心病理特征为肝细胞中脂质异常沉积，且常伴随氧化应激、胰岛素抵抗及脂质代谢紊乱等病理过程，若病情持续进展可诱发非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化甚至肝癌。ALT、AST是评估肝损伤的核心生物学标志物[17-18]。MDA是脂质过氧化的特异性指标[19]，SOD是机体抗氧化功能的关键效应分子[20]，二者共同参与NAFLD的病理进展。TG是甘油和脂肪酸通过酯化反应合成的脂类物质，主要在肝脏中合成，其代谢过程包括氧化分解和外排；当其合成、代谢或外排中的任何一个环节发生紊乱时，均可导致肝细胞内脂质异常沉积[21]。本研究结果显示，经BYHWD及其有效部位含药血清干预后，L02细胞中脂滴面积占比和TG、AST、MDA水平均降低，SOD水平（30YC含药血清组、50YC含药血清组、75YC含药血清组除外）均升高；且与BYHWD含药血清相比，BYHWD有效部位含药血清对上述大部分指标的影响差异无统计学意义。这提示，BYHWD及其有效部位可能通过抑制氧化应激反应，减少脂质沉积，从而发挥改善NAFLD的作用。

NAFLD与脂质代谢紊乱、能量稳态失衡密切相关。AMPK作为细胞能量代谢的核心传感器，其活性降低是NAFLD发生发展的重要分子机制之一，当AMPK被激活后，其可通过磷酸化下游靶蛋白来抑制脂质合成、促进脂肪酸氧化，从而维持脂质代谢平衡；SREBP-1作为脂质合成通路的关键转录因子，在NAFLD患者肝细胞中异常高表达，其可直接调控脂肪酸合成酶、乙酰辅酶A羧化酶等脂质合成相关因子的转录过程；GPAT是TG合成的限速酶，其过度激活会导致肝细胞内TG大量蓄积，从而形成脂滴，加剧肝脏脂肪变性[11-13]。相关研究也发现，调控AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路，可改善大鼠脂质代谢紊乱[22]。本研究结果显示，经BYHWD及其有效部位含药血清干预后，L02细胞中AMPK mRNA及其蛋白磷酸化水平均升高，SREBP-1、GPAT mRNA及其蛋白表达水平均降低；且与BYHWD含药血清相比，BYHWD有效部位含药血清在调控AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路中多数蛋白和mRNA表达方面，作用无显著差异。这提示，BYHWD及其有效部位可通过调控AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路，发挥改善NAFLD的作用。

综上所述，BYHWD及其有效部位可通过调控AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路，抑制氧化应激反应，减轻脂质沉积，从而发挥改善NAFLD的作用。本研究也发现，BYHWD及其有效部位改善NAFLD的作用差异不大，但在改善某些指标上存在一定差异。未来本课题组将进一步分析BYHWD及其有效部位中调控

AMPK/SREBP-1/GPAT信号通路的活性单体成分，从而为NAFLD的治疗提供靶向策略和理论基础。

参考文献

[1] 杨金彪，陈星彤，周云越，等. 基于Nrf2信号通路中药对代谢相关脂肪性肝病预防及治疗作用研究进展[J]. 药物评价研究，2024，47(11)：2681-2687.

[2] LE M H，YEO Y H，LI X H，et al. 2019 global NAFLD prevalence：a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol，2022，20(12)：2809-2817.e28.

[3] CHRYSAVGIS L，GIANNAKODIMOS I，DIAMANTOPOULOU P，et al. Non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma：clinical challenges of an intriguing link[J]. World J Gastroenterol，2022，28(3)：310-331.

[4] 高改娅，李莎，薛敬东，等. 非酒精性脂肪性肝病中医证型及证素研究[J]. 临床肝胆病杂志，2021，37(1)：89-93.

[5] 陈欢，徐陆周，黄芳. 中药基于“肠-肝轴”防治非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J]. 药学进展，2024，48(11)：849-859.

[6] 潘雨晴，毛傲洁，于楚楚，等. 中药有效成分及其复方防治非酒精性脂肪性肝病的现状与展望[J]. 临床肝胆病杂志，2024，40(10)：1933-1941.

[7] 钱煜昊，卜献忠，郭晓辉，等. 基于Nrf2/HO-1通路介导的铁死亡探讨补阳还五汤对脊髓损伤的保护作用[J/OL]. 中国实验方剂学杂志，2025：1-15[2025-09-03]. https://xueshu.baidu.com/ndscholar/browse/detail paperid=177q0js0gj3k06p0g95f0xs0v9362921.

[8] GUO J F，ZHANG Y W，ZHOU R，et al. Deciphering the molecular mechanism of Buyang huanwu decoction in interference with diabetic pulmonary fibrosis via regulating oxidative stress and lipid metabolism disorder[J]. J Pharm Biomed Anal，2024，243：116061.

[9] 王昌明，史永奋，王丹华. 补阳还五汤加减治疗脂肪肝59例临床疗效观察[J]. 中国中西医结合消化杂志，2003，11(2)：88-89.

[10] YANG S H，ZHANG Y K，LIU X X，et al. Effects of different components of Buyang huanwu tang on the PPARγ/LXRα/ABCA1 pathway in hypercholesterolemia mouse model[J]. Int J Genomics，2025，2025：9595757.

[11] BADI R M，MOSTAFA D G，KHALEEL E F，et al. Resveratrol protects against hepatic insulin resistance in a rat's model of non-alcoholic fatty liver disease by down-regulation of GPAT-1 and DGAT2 expression and inhibition of PKC membranous translocation[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol，2019，46(6)：545-555.

[12] ZHUGE H，PAN Y，LAI S L，et al. *Penthorum chinense* Pursh extract ameliorates alcohol-related fatty liver disease in mice via the SIRT1/AMPK signaling axis[J]. Heliyon，2024，10(11)：e31195.

[13] 隆逸瑶，刘渝港，夏会平，等. 三萜皂苷抗肥胖及其作用机制的研究进展[J]. 食品工业科技，2022，43(7)：445-456.

[14] XIANG Q W，WEN J Y，ZHOU Z H，et al. Effect of hydroxy-α-sanshool on lipid metabolism in liver and hepatocytes based on AMPK signaling pathway[J]. Phytomedicine，2024，132：155849.

[15] LI Y，XU S Q，MIHAYLOVA M M，et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice[J]. Cell Metab，2011，13(4)：376-388.

[16] FANG S J，MA Y X，YANG S H，et al. The components of Buyang huanwu decoction with UPLC-MS[J]. Nat Prod Commun，2024，19(9)：1934578X241275820.

[17] ZHANG S C，CUI Z W，ZHANG H，et al. Pea albumin extracted from pea（*Pisum sativum* L.）seeds ameliorates high-fat-diet-induced non-alcoholic fatty liver disease by regulating lipogenesis and lipolysis pathways[J]. Nutrients，2024，16(14)：2232.

[18] RAJENDRAN R，SUMAN S，DIVAKARAN S J，et al. Sesaminol alters phospholipid metabolism and alleviates obesity-induced NAFLD[J]. FASEB J，2024，38(14)：e23835.

[19] YAO W J，FAN M C，QIAN H F，et al. Quinoa polyphenol extract alleviates non-alcoholic fatty liver disease via inhibiting lipid accumulation，inflammation and oxidative stress[J]. Nutrients，2024，16(14)：2276.

[20] YUAN Z S，TIAN Y，ZHANG C，et al. Integration of systematic review，lipidomics with experiment verification reveals abnormal sphingolipids facilitate diabetic retinopathy by inducing oxidative stress on RMECs[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids，2023，1868(11)：159382.

[21] TAN H W，MI N，TONG F L，et al. Lactucopicrin promotes fatty acid β-oxidation and attenuates lipid accumulation through adenosine monophosphate-activated protein kinase activation in free fatty acid-induced human hepatoblastoma cancer cells[J]. Food Sci Nutr，2024，12(8)：5357-5372.

[22] 宓伟，于敏，李宁，等. 基于AMPK/SREBP-1c分子通路的山楂原花青素调控脂质代谢机制[J]. 食品科学，2023，44(15)：129-136.

（收稿日期：2025-07-21　修回日期：2026-01-02）

（编辑：唐晓莲）