

替米沙坦抑制 SOCS-3/SREBP-1c 通路改善非酒精性脂肪性肝炎模型大鼠的胰岛素抵抗

刘复娜, 王素格, 沈毅慧, 蒋树林*

(河北医科大学附属第二医院, 河北省消化病研究所, 石家庄 050000)

【摘要】目的 探讨替米沙坦对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝组织 SOCS-3 通路的抑制作用及对胰岛素抵抗的干预作用。**方法** 70 只雄性 SD 大鼠随机分为 A(20 只, 正常对照)、B(30 只, 模型对照)和 C 组(20 只, 实验干预)。A 组大鼠喂以普通饲料, B 和 C 组喂以高脂饲料; 12 周末随机处理 B 组 10 只, 行正葡萄糖高胰岛素钳夹试验, 证实 IR-NASH 造模成功(100%)后, B、C 两组继续高脂喂养, 并予 C 组大鼠替米沙坦每日 5 mg/kg 灌胃, 16 周末全部大鼠测血清 IL-6、TG、TC、ALT、AST、空腹血糖(FBG)和血清胰岛素(FBI), 并计算胰岛素抵抗指数; 行正葡萄糖高胰岛素钳夹试验, 肝组织 HE 肝脏病理学检查, 半定量 RT-PCR 法检测肝组织 SOCS-3 和 SREBP-1c mRNA 表达水平。**结果** 高脂饮食 12 周大鼠进展为 NASH。16 周末, B 组大鼠肝湿重显著高于 A 组, C 则明显低于 B 组; B 组出现血脂异常和 IR, 血清 IL-6、肝脏 SOCS-3 mRNA 和 SREBP-1c mRNA 表达水平明显上调(与 A 组比较 $P < 0.01$), 三者分别与稳态葡萄糖输注率(VGIR60-120)显著负相关($r = 0.9248, P < 0.0001; r = 0.9011, P < 0.0001; r = 0.9739, P < 0.0001$)。替米沙坦干预后, 肝功能和血脂异常明显改善, NASH 病理明显好转, SOCS-3 mRNA 和 SREBP-1c mRNA 较 B 组显著下调($P < 0.01$), 同时 VGIR60-120 明显增高($r = 0.9532, P < 0.0001; r = 0.9687, P < 0.0001$), 表明 IR 明显改善; 而此时 IL-6 仍高水平, 与 VGIR60-120、SOCS-3、SREBP-1c 失去相关关系($r = 0.0071, P = 0.7238; r = 0.0019, P = 0.8560; r = 0.0002, P = 0.9586$), 而 SOCS-3 mRNA 和 SREBP-1c mRNA 仍显著相关($r = 0.9439, P < 0.0001$)。**结论** 替米沙坦干预 NASH 大鼠可显著减改善肝功能和 IR, 其机制并非抑制炎症因子 IL-6, 而是下调肝脏 SOCS-3、SREBP-1c 的表达, 从而改善糖脂代谢和 NASH。

【关键词】 非酒精性脂肪性肝炎; 胰岛素抵抗; SOCS-3; SREBP-1c; 替米沙坦

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017)03-0281-08

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2017.03.009

Telmisartan improves insulin resistance in the rats with nonalcoholic steatohepatitis by SOCS-3/SREBP-1c pathway

LIU Fu-na, WANG Su-ge, SHEN Yi-hui, JIANG Shu-lin*

(The Second Hospital, Hebei Medical University, Research Institution of Gastrointestinal Diseases, Shijiazhuang 050000, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the effects of telmisartan by SOCS-3/SREBP-1c pathway and its efficacy of improving insulin resistance (IR) in rats with high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis (NASH). **Methods** A total of 70 SD male rats were assigned randomly into 3 groups: A (normal control, 20 rats, basic diet), B (model control, 30 rats, high-fat diet) and C (treatment with telmisartan, 20 rats, high-fat diet). After the IR-NASH model was made successfully, proved by 10 rats randomly from the group B with euglycemic hyperinsulinemic clamp technique (EHCT) and

[作者简介] 刘复娜(1982-), 女, 硕士研究生, 现工作于华北石油管理局总医院。研究方向: 非酒精性脂肪性肝病。Email: liufuna123@163.com

[通讯作者] 蒋树林(1965-), 男, 教授, 研究方向: 慢性肝病、幽门螺杆菌及消化内镜。Email: shulinjiang1@aliyun.com

liver histology, the rats in the group C were intragastrically administrated telmisartan (5 mg/kg/d) for 4 weeks, and then all rats were tested with EHCT and sacrificed to test the blood chemistry, interleukin-6, homeostasis model assessment of insulin resistance, hepatic pathological analysis, and semiquantitative RT-PCR for determining SOCS-3 and SREBP-1c mRNA. **Results** Rats with high-fat diet developed steatohepatitis and insulin resistance at the 12th week and had more weight gain and higher liver index at the 16th week. IL-6, SOCS-3 and SREBP-1c mRNA expressions in the group B were up-regulated obviously, and each was positively correlated with the velocities of glucose infusion rates at 60 ~ 120 min. Blood chemistry and pathological observation in the group C were all improved; both SOCS-3 and SREBP-1c mRNA were down-regulated, and each negatively correlated with VGIR60-120, while serum IL-6 stayed at a high level. **Conclusions** Telmisartan can remarkably improve hepatic function and insulin resistance in rats with IR-NASH, the mechanisms of which would not be by path of reducing the secretion of IL-6, but by down-regulating the expressions of SOCS-3 and SREBP-1c mRNA.

【Key words】 Nonalcoholic steatohepatitis; Insulin resistance; SOCS-3; SREBP-1c; Telmisartan; Rats

Corresponding author: JIANG Shu-lin. Email: shulinjiang1@aliyun.com

非酒精性脂肪性肝病/非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic fat liver disease/nonalcoholic steatohepatitis, NAFLD/NASH) 目前尚无疗效理想的治疗药物。抑制细胞因子信号转导抑制因子 3 (suppressor of cytokine signaling-3, SOCS-3) 在肝脏的表达成为 NAFLD 药物治疗的研究热点^[1-4]。尽管噻唑烷二酮 (thiazolidinediones, TZD) 类药物可以下调 SOCS-3 的表达, 并显著改善胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)^[5,6], 但此类药物可以引起肥胖、水肿甚至心功能不全等副作用。最近研究表明, 某些 ARBs 类药物如替米沙坦对 NAFLD/NASH 具有潜在应用价值^[7,8]。

鉴于 IR 和细胞因子等介导了 NAFLD/NASH 肝脏炎症及纤维化的病理过程, 因此, 改善胰岛素敏感性、调整细胞因子信号转导可能影响 NASH 的病理进程^[9]。研究表明, IL-6 在 IR 患者体内较正常组高 2 ~ 3 倍, 可能是 IR 的致病介质^[10]; SOCS-3 的过表达可引起 IR 和 SREBP-1c 的增加^[3,4], 并为 IL-6 关键性生物调节因子^[11]; 因此推测, NASH 发病机制中 IL-6、SOCS-3 和 SREBP-1c 可能存在瀑布放大关系。替米沙坦在这瀑布关系起何种作用, 目前尚无研究报道。因此, 本实验采用替米沙坦干预高脂饮食诱导的 IR-NASH 大鼠, 观察对 IL-6、SOCS-3 和 SREBP-1c 的表达及其相互关系。

1 材料与方法

1.1 实验设计及 NASH 模型的制备

1.1.1 实验动物

选用清洁级成年雄性 Sprague Dawley 大鼠 70 只, 体重 (175 ± 10) g, 4 周龄, 由河北医科大学实验动物学部提供【SCXK(冀)2013-1-003】。全部动物均在河北医科大学第二医院实验室【SYXK(冀)

2016-003】饲养, 自由进食水。准确称重、标记, 适应性喂养 1 周。

1.1.2 分组设计及 NASH 模型制备

实验动物分 3 组: A 组 (正常对照) 20 只, 给予基础饲料喂养; B 组 (模型对照) 30 只, C 组 (实验干预) 20 只, 均给予配方^[12]为 88% 基础饲料 + 10% 猪油 + 2% 胆固醇的高脂饲料喂养。普通饲料及高脂饲料均由河北医科大学实验动物中心配制。12 周后随机选取 B 组 10 只进行正葡萄糖高胰岛素钳夹试验 (euglycemic hyperinsulinemic clamp technique, EHCT), 然后处死大鼠取同一部位肝组织行病理学检查。B、C 组大鼠继续高脂喂养, 同时 C 组大鼠经灌胃法给予替米沙坦每日 5 mg/kg, 4 周。最后全部大鼠处死, 取血清及肝组织存于 -70℃ 备用。

1.2 研究方法

自第 13 周始, C 组给予替米沙坦每日 5 mg/kg 溶于 1 mL 0.9% 的氯化钠灌胃, A 组与 B 组均给予等量氯化钠灌胃。给药过程于每日上午 8:30 ~ 10:00 完成。每周称重 1 次, 据体重变化调节给药剂量, 连续进行至 16 周末给药期结束, 行 EHCT (如前述) 并进行以下研究。

1.2.1 EHCT

参照 Diggs-Andrews 方法^[13], 试验前禁食 12 h, 自由饮水。方法简述如下: 腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 (60 mg/kg) 进行麻醉。分离左颈静脉和右侧股动脉。左颈静脉插入留置针套管 (50 U/mL 肝素生理盐水溶液抗凝), 结扎固定, 三通管连接两台微量注射仪; 右侧股动脉往近心端方向插入置套管 (50 U/mL 肝素生理盐水溶液) 用以监测血糖。大鼠静置 30 min 后, 股动脉抽取血液 1 mL, 用罗氏血糖仪测定血糖作为基础血糖 (BBG), 余血置于干管备用。自颈静脉持续输注胰岛素, 输注速率为每分钟

10 mU/kg。每 5 min 后从股动脉取血测定血糖值,若低于 BBG - 0.5 mmol/L,则输注 10% 葡萄糖,输注速率从每分钟 4 ~ 6 mg/kg 开始,调整葡萄糖输注速率,使血糖恢复到 BBG \pm 0.5 mmol/L 范围;当连续 3 次血糖值均在上述范围时,视为达到稳态,一般需要 60 min。继续每隔 5 min 测血糖,必要时微调葡萄糖输注速率,共进行至 120 min。计算达稳态后 60 min 内平均葡萄糖输注速率 VGIR60-120。

1.2.2 生化指标

16 周末全部大鼠禁食水 12 h 后尾静脉采血,测血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和空腹血糖(FBG);采用液相平衡竞争放射免疫分析法检测血清胰岛素(FINS)和 IL-6 水平,以稳态模型评估法计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR = (FBG \times FINS)/22.5)。

1.2.3 肝脏指数及组织学检查

将肝脏完整分离至体外,冷盐水冲洗后称量并记录肝湿重,计算肝脏指数(肝脏指数 = 肝湿重/体重 \times 100%)。取肝右叶约 1 cm \times 1 cm \times 0.5 cm 组织固定、包埋、切片、HE 染色。光学显微镜下对肝脂肪变性和炎细胞浸润程度分级^[14]。肝脂肪变性占所获取肝组织标本量的范围分 4 度(F0 - 4): F0 < 5% 肝细胞脂肪变; F1 5% ~ 30% 肝细胞脂肪变; F2 31% ~ 50% 肝细胞脂肪变性; F3 51% ~ 75% 的肝细胞有脂肪变; F4 75% 以上的肝细胞有脂肪变。NASH 的炎症分级(G0 - 3): G0 无炎症; G1 腺泡 3 带呈现少数气球样肝细胞,腺泡内散在个别点灶状坏死; G2 腺泡 3 带明显气球样肝细胞,腺泡内点灶状坏死增多,门管区轻或中度炎症; G3 腺泡 3 带广泛的气球样肝细胞,腺泡内点灶状坏死明显,门管区轻-中度炎症伴/或门管区周围炎症。

1.2.4 SOCS-3 mRNA、SREBP-1c mRNA 检测

半定量 RT-PCR 测肝组织 SOCS-3、SREBP-1c mRNA 基因转录水平的变化。主要步骤:提取肝组织总 RNA,置于紫外分光光度仪上测定 A_{260}/A_{280} 在 1.8 ~ 2.0 之间。取 RNA 样品 2 μ L,加入 6 倍上样缓冲液 1 μ L,60 V 电压电泳至溴酚蓝迁移到凝胶的 3/4 处;紫外灯下可见 28S 的宽度及亮度约是 18S 的两倍,且边缘清晰。引物序列检索自 NCBI-Nucleotide 基因库,采用 Primer5.0 软件设计,由北京赛百胜基因有限公司合成。SOCS-3 mRNA 引物:5'-CAGCTCCAAGAGCGAGTACCAG-3' 5'-CATGTAGTGGT-

GCAC CAACTTGA -3',94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,59 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,循环 35 次,72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min,扩增产物 306 bp。SREBP-1c mRNA 引物:5'-GCAACACTG GCAGAGATCTACGT -3' 5'-TGGCGGGCACTACTCAGGAA -3',94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,60 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,循环 30 次,72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min 扩增产物 104 bp。GAPDH 引物:5'-CCCTGAAGTACCCCATTGAA-3' 5'-TCTCCAGGG AGGAAGAGGAT-3',94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,59 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,循环 35 次,72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min,扩增产物 516 bp。取 5 μ L RT-PCR 产物行 2% 琼脂糖凝胶电泳,凝胶图像分析系统进行吸光度扫描,观察条带的灰度强弱,结果以 SOCS-3 或 SREBP-1c 和 GAPDH 的积分吸光度比值表示。

1.3 统计分析

采用 SPSS 14.0 软件进行统计分析,计量资料数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析(one-way ANOVA)及直线相关分析。如方差不齐者采用 Brown-Forsy 检验,两两间比较采用 Tamhane's T2 检验;相关性分析采用 Spearman rank correlation 相关性检验。

2 结果

2.1 肝湿重、肝脏指数

第 16 周末 B、C 组大鼠肝湿重均显著高于 A 组($P < 0.01$);C 组肝湿重显著低于 B 组($P < 0.01$)。B 组与 C 组大鼠肝脏指数显著高于 A 组($P < 0.01$);C 组肝脏指数低于 B 组($P < 0.05$)。(表 1)

2.2 ALT、AST、TG、TC

第 16 周末,C 组 ALT 低于 B 组($P < 0.01$);AST 则与 B 组相比差异无显著性($P > 0.05$)。C 组大鼠血清 TC 低于 B 组($P < 0.01$);而 TG 差异无显著性($P > 0.05$)。(表 1)

2.3 空腹血糖、血清胰岛素、胰岛素抵抗指数

第 16 周末,B 组大鼠 FBG 显著高于 A 组($P < 0.01$),C 组显著低于 B 组($P < 0.01$),C 组与 A 组相比,差异无显著性($P > 0.05$)。B 组大鼠 FINS 和 HOMA-IR 显著高于 A 组与 C 组($P < 0.01$),而 A 组和 C 组差异无显著性($P > 0.05$)。(表 1)

2.4 血清 IL-6 及肝组织 SOCS-3 mRNA、SREBP-1c mRNA

第 16 周末,C 组大鼠血清 IL-6 水平与 B 组差

异无显著性($P > 0.05$),均处于较高水平,两组均高于 A 组(图 1)($P < 0.01$)(图 1)。A 组大鼠肝组织仅有少量 SOCS-3 表达,B 组肝组织 SOCS-3 表达较 A 组明显增强($P < 0.01$),C 组 SOCS-3 表达显著下调,与 A 组差异无显著性($P > 0.05$)(图 1,图 2)。

表 1 16 周末三组间各参数比较

Tab. 1 Comparison of parameters between the three groups at the end of 16th week

分组 Groups	肝湿重 LWW	肝脏指数 LI	丙氨酸氨基转移酶 ALT	天门冬氨酸氨基转移酶 AST	总胆固醇 TC
A	13.03 ± 2.74	2.72 ± 0.57	48.20 ± 10.99	153.00 ± 45.06	1.44 ± 0.24
B	25.40 ± 4.71**	4.29 ± 0.49**	114.00 ± 19.75**	265.33 ± 52.16**	2.65 ± 0.77**
C	18.19 ± 2.73**#	3.79 ± 0.57**#	78.80 ± 15.64**#	211.83 ± 65.51	2.22 ± 0.55**
分组 Groups	甘油三酯 TG	空腹血糖 FBG	血清胰岛素 FINS	胰岛素抵抗指数 HOMA-IR	稳态葡萄糖输注率 VGIR60-120
A	0.29 ± 0.14	4.58 ± 1.00	10.48 ± 1.46	2.13 ± 0.29	12.56 ± 1.80
B	0.53 ± 0.27*	6.58 ± 0.86**	20.7 ± 0.91**	6.23 ± 0.19**	4.83 ± 1.57**
C	0.39 ± 0.18	5.38 ± 0.88#	15.0 ± 1.22**#	3.59 ± 0.29**#	9.84 ± 1.36**#

注: * 与 A 比较, # 与 B 比较; ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$; ## $P < 0.01$, # $P < 0.05$ 。

Note. * Compared with the group A, # Compared with the group B, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$; ## $P < 0.01$, # $P < 0.05$.

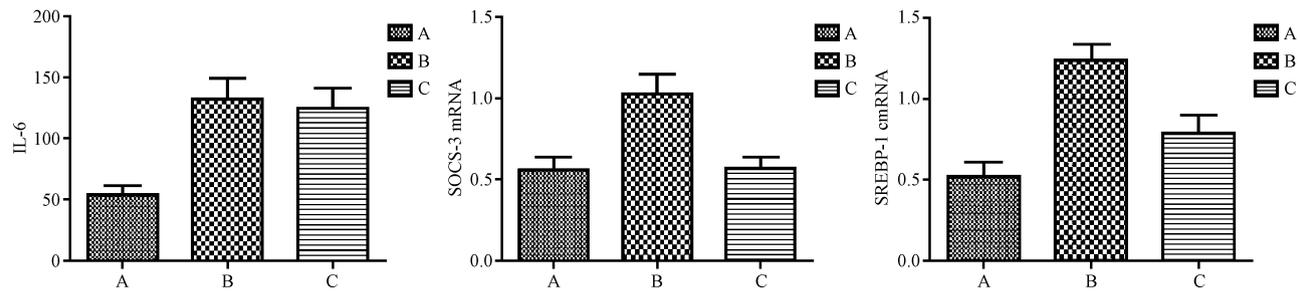


图 1 各组大鼠血清 IL-6 水平及肝组织 SOCS-3、SREBP-1c mRNA 的表达

Fig. 1 Changes of serum IL-6, expression levels of SOCS-3 mRNA and SREBP-1c mRNA in the rat livers

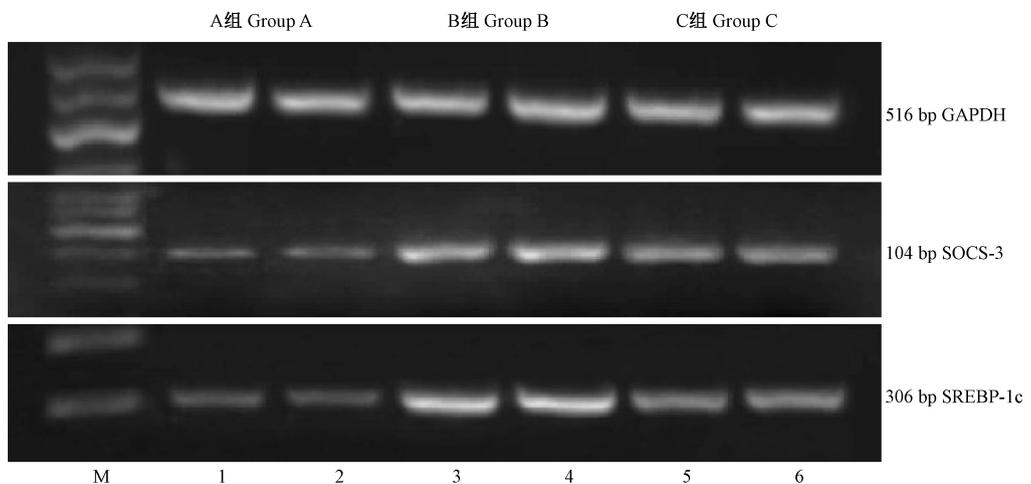


图 2 肝组织 SOCS-3、SREBP-1c mRNA 的表达

Fig. 2 The expression levels of SOCS-3 mRNA and SREBP-1c mRNA in the rat livers

2.5 正葡萄糖高胰岛素钳夹试验

第 16 周末, B 组大鼠 VGIR60-120 明显低于 A 组($P < 0.01$), C 组则明显高于 B 组($P < 0.01$)(表

与 SOCS-3 相似, A 组大鼠肝组织仅有少量 SREBP-1c 表达, B 组肝组织 SREBP-1c 表达较 A 组显著增强($P < 0.01$), C 组较 B 组显著下调($P < 0.01$), 与 A 组相当($P > 0.05$)(图 1, 图 2)。

1)。相关分析表明, A 和 B 组各 20 只大鼠血清 IL-6 水平、肝组织 SOCS-3 mRNA 和 SREBP-1c mRNA 表达与葡萄糖稳态输注率呈明显相关关系(图 3, 图

4)。而 C 组 20 只大鼠,血清 IL-6 仍居高不下,与 VGIR60-120、SOCS-3 mRNA、SREBP-1c mRNA 不呈正或负相关关系;而 SOCS-3 mRNA 和 SREBP-1c

mRNA 表达,与葡萄糖稳态输注率仍分别呈明显负相关关系,SOCS-3 mRNA 和 SREBP-1c mRNA 两者间仍呈明显正相关关系(图 5)。

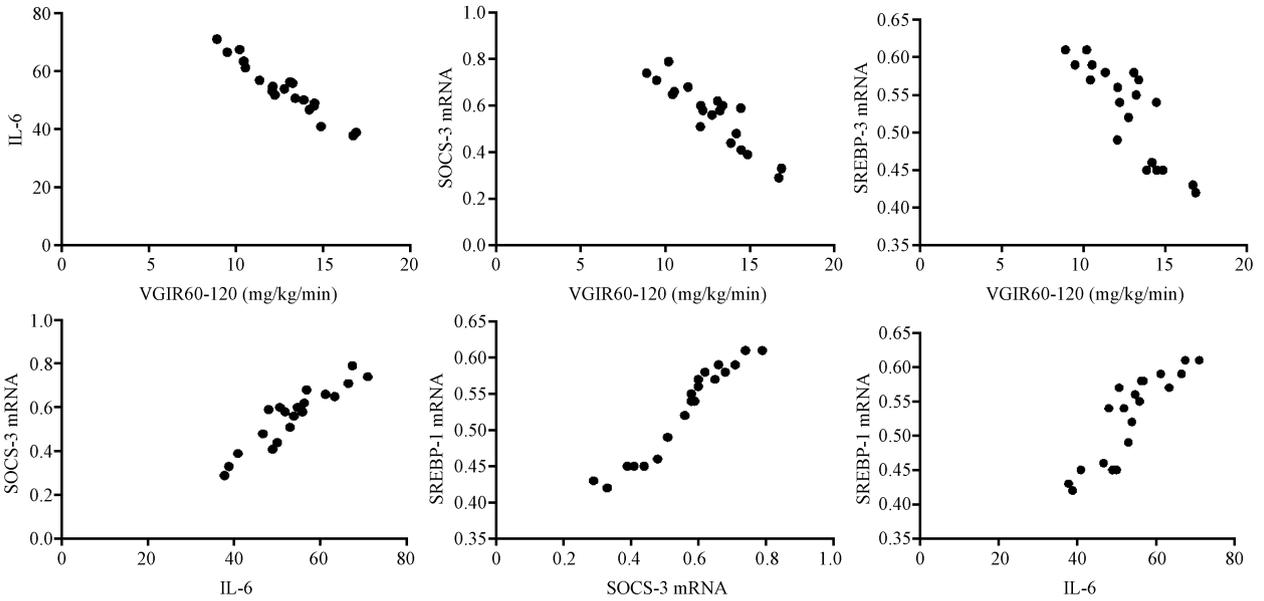


图 3 A 组各项指标的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis of the indexes in the group A

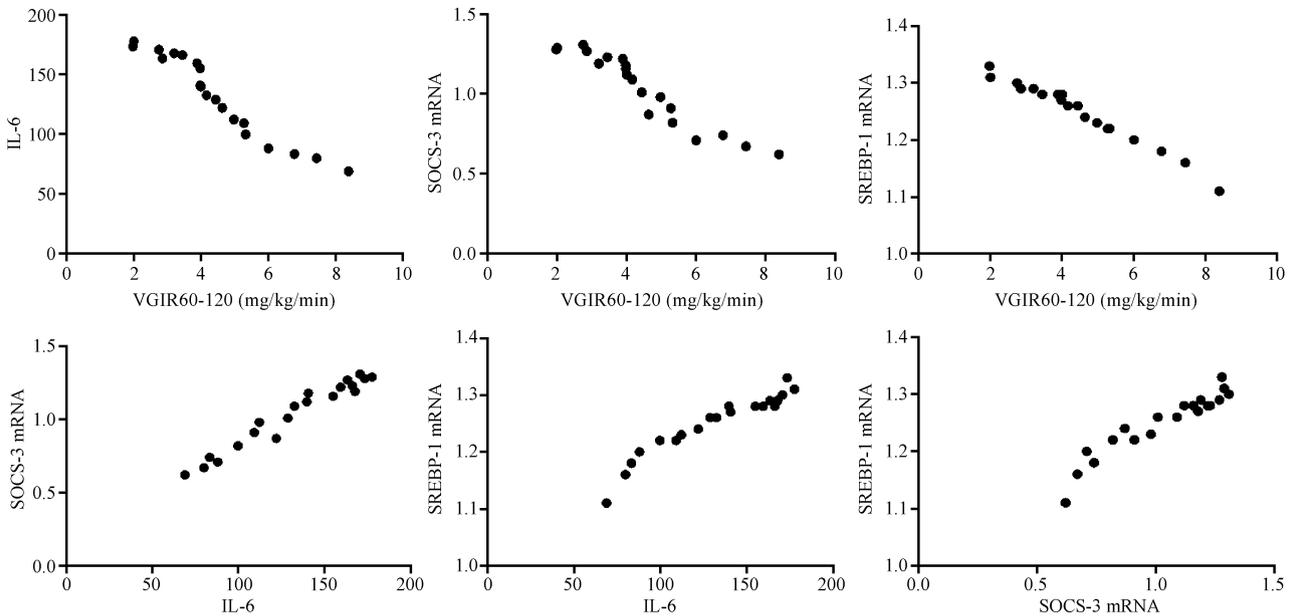


图 4 B 组各项指标的相关性分析

Fig. 4 Correlation analysis of the indexes in the group B

2.6 肝病理学改变

光镜下观察 A 组大鼠,肝小叶结构清晰,肝细胞中央有大而圆的核,胞质均匀,无脂滴浸润,汇管区及小叶内无炎细胞浸润。B 组大鼠 12 周均出现弥漫性肝细胞脂肪变性和炎细胞浸润,随造模时间延长脂肪变程度逐渐加重,16 周脂肪变程度均为

F₄;炎症分级以 G₂-G₃ 为主,与正常组比较差异有显著性。C 组也存在一定的肝细胞脂肪变性,但以 F₂ 为主,较 B 组明显改善。炎症分级以 G₁ 为主,但统计学分析较 B 组差异无显著性。B 组 16 周 3/20 只大鼠出现中央静脉周围、窦周少量纤维组织增生,A 组和 C 组未见明显肝组织纤维化(表 2,图 6)。

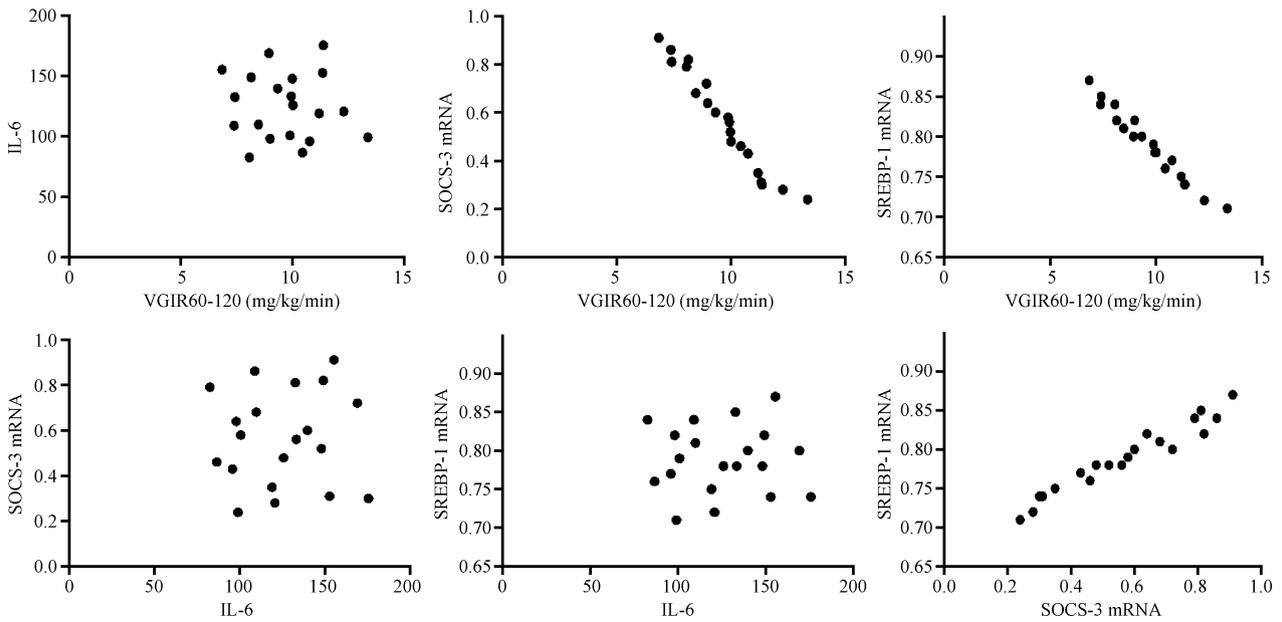


图 5 C 组各项指标的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis of the indexes in the group C

表 2 肝细胞脂肪变性及肝组织炎症分级比较 ($n = 20$)

Tab. 2 The steatosis of hepatocytes and histological inflammatory grade in each group

分组 Groups	肝细胞脂肪变性 (F) Steatosis of hepatocytes						肝组织炎症分级 (G) Histological inflammatory grade				
	F0	F1	F2	F3	F4	mean rank	G0	G1	G2	G3	mean rank
A	20	0	0	0	0	5.5	20	0	0	0	5.5
B	0	0	0	2	1825.35**	0	4	9	7	21.55*	
C	2	5	12	1	015.65***	2	10	6	1	19.45*	

注: * 与 A 比较, # 与 B 比较; ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ 。

Note. * Compared with the group A, # compared with the group B, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, *** $P < 0.01$.

3 讨论

目前普遍认为, IR 在 NASH 的发病中起关键作用, 改善 IR 成为治疗 NASH 的重要环节^[15,16]。有研究发现 IR 患者的血清 IL-6 水平较正常者明显升高, 与 IR 的发生密切相关, 其分子机制可能为 IL-6 干扰胰岛素的信号转导, 形成胰岛素受体后信号转导通路的缺陷^[10,17,18]; SOCS-3 作为接头分子参与了 IL-6 介导的 IR^[19-21]; 同时上调肝脏 SREBP-1c 的表达^[3,4], 进而引起肝细胞内脂肪堆积。但 IL-6、SOCS-3、SREBP-1c 三者间及其与 IR-NASH 间的关系目前尚未阐明。

研究表明采用高脂饮食喂养 SD 大鼠可建立 IR-NASH 模型^[22], 本实验证实, IR-NASH 大鼠血清中存在高水平的 IL-6, 肝组织 SOCS-3 亦呈高表达状态。理论上, SOCS-3 的表达可能会抑制 IL-6 引起的 IR, 但本研究显示, SOCS-3 的高表达不仅未能改善 IR, 反而使 IR 进一步加剧, 我们称之为肝组织 SOCS-3 高过

表达状态 (overtop expression)。随着 IR-NASH 模型大鼠 SOCS-3 呈过高表达, HOMA-IR 亦明显加剧; 正葡萄糖高胰岛素钳夹研究表明, 稳态葡萄糖输注率明显低于正常对照组, 表明肝细胞胰岛素敏感性显著受损。结果提示, 肝组织 SOCS-3 本身可能会直接通过某种途径引起 IR。本研究还表明, IR-NASH 模型大鼠 SREBP-1c 与 SOCS-3 均呈现高过表达状态, 二者分别与稳态葡萄糖输注率呈明显相关, 二者之间亦成显著相关关系。提示 SOCS-3 和 SREBP-1c 与 IL-6 共同参与了 NASH 的发病。

因此, 抑制 IL-6/SOCS-3/SREBP-1c 可能会改善 IR-NASH。NASH 的治疗目前尚无理想的药物, 近年来研究认为过氧化体增殖物激活受体 γ 激动剂—噻唑烷二酮类 (TZDs) 药物对于 IR-NASH 的治疗有一定的帮助^[20,23,24]。但 TZDs 类药物在降低脂肪沉积的同时增加了体重, 造成肥胖, 还可引起水钠潴留造成水肿、心衰等副作用^[25], 限制了该类药物在 NASH 患者中的应用。

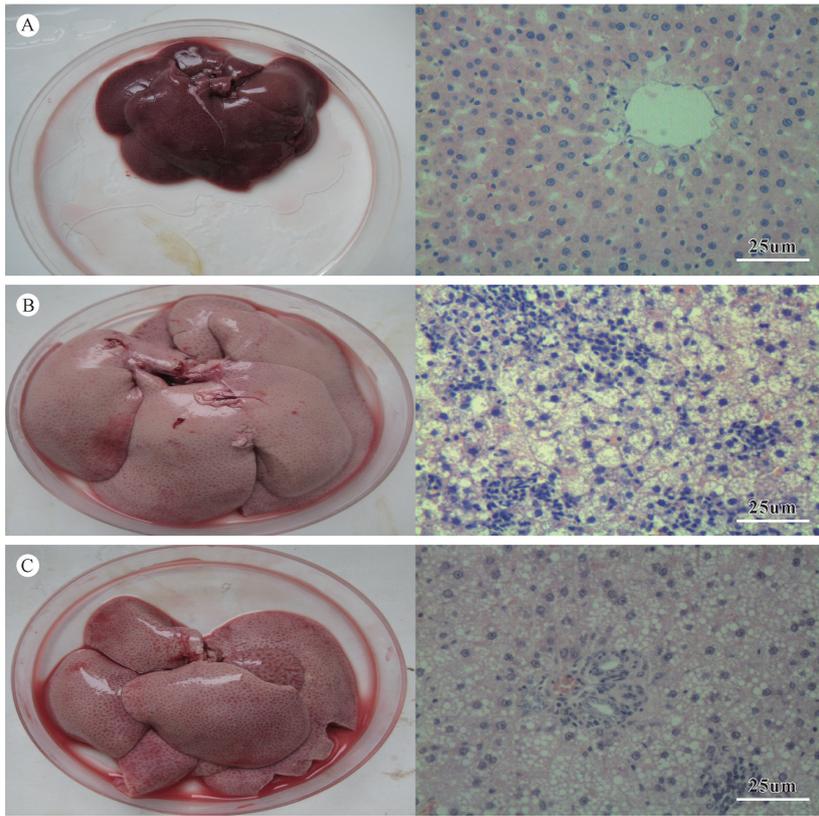


图 6 全肝外观及肝组织学比较(A 正常对照,B 模型对照,C 实验干预)

Fig. 6 Changes in gross appearance and histology of the rat livers(A: A normal control rat. B: A model control rat. C: A rat of the intervention group)

研究发现,血管紧张素受体阻滞剂(ARBs)类药物替米沙坦可使高血压肥胖者在有效降压同时减轻体重^[26],且替米沙坦作为 AT1 受体拮抗剂,降压疗效确切,又对心、脑、肾等器官具有良好的保护作用。有研究表明,替米沙坦可能具有 PPAR γ 激动作用^[27],但是否可改善糖脂代谢、改善 IR 尚未完全明确。替米沙坦是否对 IL-6/SOCS-3/SREBP-1c 介导 IR 途径起作用亦未见研究报道。既往关于 IL-6/SOCS-3/SREBP-1c 通路的研究多以脂肪细胞和平滑肌细胞为研究载体,其研究的主要目的亦限于糖尿病和心脑血管疾病,少有以肝细胞为研究载体的报道。

本研究表明替米沙坦可有效降低 IR-NASH 大鼠血清 TG、ALT 水平,显著改善 NASH 大鼠 HOMA-IR,稳态葡萄糖输注率亦显著提高,提示机体胰岛素敏感性显著改善。肝组织学研究表明,替米沙坦干预后肝细胞脂肪变性自 F4 降为 F2,炎症反应自 G3 降为 G1 ~ G2。替米沙坦作用机制为抑制肝组织 SOCS-3 的高过表达状态。一方面可抑制 SREBP-1c 的表达,抑制肝细胞对脂类的摄取减轻肝细胞脂肪变性;另一方面,改善 IL-6 所致胰岛素受体后缺陷,

恢复或改善胰岛素敏感性。经替米沙坦干预的 IR-NASH 大鼠肝组织 SOCS-3 高过表达状态受到抑制, HOMA-IR 和稳态葡萄糖输注率明显改善。

本研究还发现,替米沙坦在抑制 IR-NASH 大鼠肝组织 SOCS-3 表达时,血清 IL-6 水平未见明显减低。表明作为 PPAR γ 半激动剂,替米沙坦改善 NASH 大鼠 IR 的作用靶点在 SOCS-3 水平,对 IL-6 无影响。NASH 的发病机制错综复杂,可以假设适度的 SOCS-3 表达可负反馈抑制 IL-6 对胰岛素受体后通路的抑制作用,二者存在一个适度的动态平衡;而 SOCS-3 的高过表达则直接强化 IL-6 所致之胰岛素受体后缺陷,导致 IR,并诱导 SREBP-1c 表达而加重 IR 和 NASH 进展。

总之,IL-6/SOCS-3/SREBP-1c 参与了 IR-NASH 的发病过程;替米沙坦可明显改善 IR-NASH 模型大鼠的肝功能,改善 IR,其机制不是抑制 IL-6 的分泌,而可能为下调 SOCS-3 和 SREBP-1c 表达,从而改善能量代谢和 NASH。然而本研究未涉及 IL-6 和 SREBP-1c 以外与 SOCSs 相关的多种细胞因子(如 TNF- α 等)及转录因子(如 chREBP),而这些因子可

能都参与了 NASH 的发生和进展。以替米沙坦为代表的 ARBs 对 NASH 的治疗作用是否通过 AT1R 实现的,抑或直接发挥 PPARs 激动作用,本研究尚未涉及。

参 考 文 献

- [1] Tilg H. The role of cytokines in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Dig Dis*, 2010, 28(1): 179–185.
- [2] Usui I, Tobe K. The role of inflammation in the development of insulin resistance in type 2 diabetes [J]. *Nihon Rinsho*, 2011, 69(3): 555–562.
- [3] Ueki K, Kondo T, Ronald C. Role of suppressors of cytokine signaling SOCS-1 and SOCS-3 in hepatic steatosis and the metabolic syndrome [J]. *Hepato Res*, 2005, 33: 185–192.
- [4] Ueki K, Kondo T, Tseng YH, et al. Central role of suppressors of cytokine signaling proteins in hepatic steatosis, insulin resistance, and the metabolic syndrome in the mouse [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(28): 10422–10427.
- [5] Aoyama T, Ikejima K, Kon K, et al. Pioglitazone promotes survival and prevents hepatic regeneration failure after partial hepatectomy in obese and diabetic KK-A(y) mice [J]. *Hepatology*, 2009, 49(5): 1636–1644.
- [6] Kanatani Y, Usui I, Ishizuka K, et al. Effects of pioglitazone on suppressor of cytokine signaling 3 expression: potential mechanisms for its effects on insulin sensitivity and adiponectin expression [J]. *Diabetes*, 2007, 56(3): 795–803.
- [7] Georgescu EF. Angiotensin receptor blockers in the treatment of NASH/NAFLD; could they be a first-class option? [J]. *Adv Ther*, 2008, 25(11): 1141–1174.
- [8] He H, Yang D, Ma L, et al. Telmisartan prevents weight gain and obesity through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-delta-dependent pathways [J]. *Hypertension*, 2010, 55(4): 869–879.
- [9] Schupp M, Clemenz M, Gineste R, et al. Molecular characterization of new selective peroxisome proliferator-activated receptor modulators with angiotensin receptor blocking activity [J]. *Diabetes*, 2005, 54: 3442–3452.
- [10] Rotter V, Nagaev I, Smith U. Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(46): 45777–45784.
- [11] Serrano-Marco L, Rodríguez-Calvo R, El Kochairi I, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-β/δ (PPAR-β/δ) ameliorates insulin signaling and reduces SOCS3 levels by inhibiting STAT3 in interleukin-6-stimulated adipocytes [J]. *Diabetes*, 2011, 60(7): 1990–1999.
- [12] Storlien L H, Oakes N D, Pan DA, et al. Syndrome of insulin resistance in the rat: Inducement by diet and amelioration with benfluorex [J]. *Diabetes*, 1993, 42: 457–462.
- [13] Diggs-Andrews KA, Zhang X, Song Z, et al. Brain insulin ac-tion regulates hypothalamic glucose sensing and the counterregulatory response to hypoglycemia [J]. *Diabetes*, 2010, 59: 2271–2280.
- [14] 徐正婕, 范建高, 王国良, 等. 高脂饮食致大鼠非酒精性脂肪性肝炎肝纤维化模型 [J]. *世界华人消化杂志*, 2002, 101(47): 392–396.
- [15] Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella MF, et al. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2010, 16(17): 1941–1951.
- [16] Tilg H, Moschen AR. Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Trends Endocrinol MeTab*, 2008, 19(10): 371–379.
- [17] Harford KA, Reynolds CM, McGillicuddy FC, et al. Fats, inflammation and insulin resistance: insights to the role of macrophage and T-cell accumulation in adipose tissue [J]. *Proc Nutr Soc*, 2011, 12: 1–10.
- [18] Mitrou P, Lambadiari V, Maratou E, et al. Skeletal muscle insulin resistance in morbid obesity: the role of interleukin-6 and leptin [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2011, 119(8): 484–489.
- [19] Farrell GC. Signalling links in the liver: knitting SOCS with fat and inflammation [J]. *J Hepatol*, 2005, 43(1): 193–196.
- [20] Lagathu C, Bastard JP, Auclair M, et al. Chronic interleukin-6 (IL-6) treatment increased IL-6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte: prevention by rosiglitazone [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 311(2): 372–379.
- [21] Lang R, Pauleau AL, Parganas E, et al. SOCS3 regulates the plasticity of gp130 signaling [J]. *Nat Immunol*, 2003, 4(6): 546–550.
- [22] 吴晏, 韩静, 黄黎明, 等. 高脂喂养合并小剂量链脲佐菌素建立 2 型糖尿病大鼠模型 [J]. *中国实验动物学报*, 2012, 20(2): 11–15.
- [23] Mori Y, Murakawa Y, Okada K, et al. Effect of troglitazone on body fat distribution in type 2 diabetic patients [J]. *Diabetes Care*, 1999, 22: 908–912.
- [24] Giusti V, Verdumo C, Suter M, et al. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma1 and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 in visceral and subcutaneous adipose tissue of obese women [J]. *Diabetes*, 2003, 52: 1673–1676.
- [25] Promrat K, Lutchman G, Uwaifo GI, et al. A pilot study of pioglitazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2004, 39(1): 188–196.
- [26] Sugimoto K, Qi NR, Kazdová L, et al. Telmisartan but not valsartan increases caloric expenditure and protects against weight gain and hepatic steatosis [J]. *Hypertension*, 2006, 47(5): 1003–1009.
- [27] Maejima Y, Okada H, Haraguchi G, et al. Telmisartan, a unique ARB, improves left ventricular remodeling of infarcted heart by activating PPAR gamma [J]. *Lab Invest*, 2011, 91(6): 932–944.