

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2026.11.006

文章编号: 1005-8982 (2026) 11-0043-07

实验研究·论著

沙棘叶对HepG2细胞脂质沉积的影响及其机制研究*

陈金品¹, 张依娜¹, 陈婕妤¹, 张萌萌¹, 欧莉¹, 李敏¹, 卫培峰², 高峰¹

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学第二附属医院, 陕西 咸阳 712000)

摘要: **目的** 探讨沙棘叶含药血清对HepG2细胞脂质沉积的干预作用及机制。**方法** 制备油酸-棕榈酸诱导的HepG2细胞脂质沉积模型, 设置空白组、模型组、阳性药组、沙棘叶低剂量组(SJYD组)、沙棘叶中剂量组(SJYZ组)、沙棘叶高剂量组(SJYG组)。采用CCK-8法检测沙棘叶含药血清最适给药浓度; 通过油红O染色和细胞内总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量测定, 评估细胞内脂质沉积情况; 运用实时荧光定量聚合酶链反应检测各组细胞腺苷活化蛋白激酶(AMPK)、乙酰辅酶A羧化酶(ACC)、肉碱棕榈酰转移酶1(CPT1)基因的相对表达量; 并利用Western blotting测定P-AMPK/AMPK、P-ACC/ACC和CPT1蛋白的相对表达量。**结果** CCK-8实验结果显示, 0%、5%、10%、15%、20%、25%浓度含药血清组细胞存活率分别为(100±0.00)%、(91.39±1.96)%、(93.41±5.60)%、(81.50±6.09)%、(65.20±3.93)%、(62.23±2.91)%。0%含药血清组与10%含药血清组细胞存活率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 随着含药血清浓度升高(>10%), 细胞存活率逐渐降低($P<0.05$)。油红O染色结果显示, 与空白组相比, 模型组细胞经油酸-棕榈酸混合溶液诱导后产生大量脂滴; 与模型组相比, 阳性药组、SJYD组、SJYZ组、SJYG组HepG2细胞内脂质沉积明显减少。与空白组相比, 模型组细胞内TG、TC含量均升高($P<0.05$); 与模型组相比, 阳性药组、SJYZ组、SJYG组细胞内TC、TG含量均降低($P<0.05$)。与空白组相比, 模型组HepG2细胞中AMPK、CPT1基因相对表达量均降低($P<0.05$); 与模型组相比, 阳性药组、SJYZ组、SJYG组AMPK基因相对表达量均升高, ACC基因相对表达量均降低, 阳性药组和SJYZ组CPT1基因相对表达量均升高($P<0.05$)。与空白组相比, 模型组HepG2细胞中P-AMPK/AMPK、P-ACC/ACC及CPT1蛋白相对表达量均降低($P<0.05$); 与模型组相比, 各给药组P-AMPK/AMPK蛋白和CPT1蛋白相对表达量均升高, 阳性药组、SJYZ组、SJYG组P-ACC/ACC蛋白相对表达量均升高($P<0.05$)。**结论** 沙棘叶改善HepG2细胞脂质沉积, 作用机制与调节AMPK/ACC/CPT1信号通路有关。

关键词: 脂质沉积; 沙棘叶; AMPK/ACC/CPT1; 信号通路; 作用机制

中图分类号: R54;R285.5

文献标识码: A

Study on the effect and mechanism of seabuckthorn leaves on lipid deposition in HepG2 cells*

Chen Jin-pin¹, Zhang Yi-na¹, Chen Jie-yu¹, Zhang Meng-meng¹, Ou Li¹, Li Min¹, Wei Pei-feng², Gao Feng¹

(1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712046, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712000, China)

收稿日期: 2025-12-08

* 基金项目: 陕西省科技厅项目(2024CY-JJQ-10); 咸阳市科技局项目(2021ZDYF-SF-0044, 2021-02-ZZ-008)

[通信作者] 高峰, E-mail: 7204612@qq.com

Abstract: Objective To explore the intervention effect and mechanism of seabuckthorn leaf-containing serum on lipid deposition in HepG2 cells. **Methods** An oleic acid-palmitic acid-induced HepG2 cell lipid deposition model was constructed, and groups were set as follows: blank group, model group, positive drug-containing serum group, seabuckthorn leaf low-dose-containing serum group (SJYD group), seabuckthorn leaf medium-dose-containing serum group (SJYZ group), and seabuckthorn leaf high-dose-containing serum group (SJYG group). The CCK-8 method was used to detect the optimal administration concentration of seabuckthorn leaf-containing serum. Oil red O staining and determination of intracellular total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) contents were performed to evaluate intracellular lipid deposition. Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction was used to detect the relative expression levels of AMPK, ACC, and CPT1 genes in cells of each group. Western blotting was used to determine the relative expression levels of P-AMPK/AMPK, P-ACC/ACC, and CPT1 proteins. **Results** The results of the CCK-8 experiment showed that the cell survival rates in the drug-containing serum groups with concentrations of 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, and 25% were $(100 \pm 0.00)\%$, $(91.39 \pm 1.96)\%$, $(93.41 \pm 5.60)\%$, $(81.50 \pm 6.09)\%$, $(65.20 \pm 3.93)\%$, and $(62.23 \pm 2.91)\%$ respectively. Compared with the 0% drug-containing serum group, there was no statistically significant difference in cell survival rate when the serum concentration was 10% ($P > 0.05$), while the cell survival rate decreased when the serum concentration was higher than 10% ($P < 0.05$). The results of oil red O staining showed that compared with the blank group, the model group cells produced a large number of lipid droplets after induction with the oleic acid-palmitic acid mixed solution; compared with the model group, the lipid deposition in HepG2 cells of the positive drug group, SJYD group, SJYZ group, and SJYG group was significantly reduced. Compared with the blank group, the contents of TG and TC in the model group cells were increased ($P < 0.05$); compared with the model group, the contents of TC and TG in the positive drug group, SJYZ group, and SJYG group were decreased ($P < 0.05$). Compared with the blank group, the relative expression levels of AMPK and CPT1 mRNA in HepG2 cells of the model group were decreased ($P < 0.05$); compared with the model group, the relative expression level of AMPK mRNA in the positive drug group, SJYZ group, and SJYG group was increased ($P < 0.05$), while the relative expression level of ACC mRNA in these groups was decreased ($P < 0.05$). The relative expression level of CPT1 mRNA in the positive drug group, SJYZ group was increased ($P < 0.05$). Compared with the blank group, the relative protein expression levels of P-AMPK/AMPK, P-ACC/ACC and CPT1 in HepG2 cells of the model group were decreased ($P < 0.05$); compared with the model group, the relative protein expression levels of P-AMPK/AMPK and CPT1 in all administration groups were increased, and the relative protein expression level of P-ACC/ACC in the positive drug group, SJYZ group and SJYG group was increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Seabuckthorn leaves can improve lipid deposition in HepG2 cells, and the mechanism is related to the regulation of the AMPK/ACC/CPT1 signaling pathway.

Keywords: lipid deposition; sea buckthorn leaves; AMPK/ACC/CPT1; signaling pathway; mechanism

一直以来, 心血管疾病都是我国乃至全球的重大公共卫生问题。据《中国心血管健康与疾病报告 2023》显示, 我国心血管疾病患病人数高达 3.3 亿^[1], 且该数字持续上升。这不仅严重威胁居民健康, 也造成了巨大的社会经济负担。因此, 加强心血管疾病防治已刻不容缓。高脂血症是心血管疾病的主要危险因素之一。现代医学将其定义为一种血浆脂质失衡状态, 多由饮食不当、脂质代谢障碍等因素引起, 表现为血浆中一种或多种脂质水平超出正常范围。长期高脂血症可诱发动脉粥样硬化、冠心病(包括心肌梗死、心绞痛)、缺血性中风等并发症, 加重心血管疾病的负担^[2]。目前西医多用他汀类、贝特类及烟酸类治疗高脂

血症, 虽然效果显著, 但长期服用会引发不同程度的副作用^[3]。相比之下, 中药在治疗上以“养”为主, 毒副作用小, 在治疗高脂血症这类慢性疾病上具有较大的优势^[4]。

沙棘叶是胡颓子科植物沙棘(*Hippophae rhamnoides L.*)的干燥叶子, 味酸、涩, 性温, 归脾、胃、肺、心经, 具有健脾消食、活血散瘀、止咳祛痰的功效。沙棘叶蕴藏量大、易于采收, 但早年作为沙棘果采收的副产品, 常被视作废弃物, 未得到学界足够重视, 导致了资源浪费^[5]。直到 2013 年, 我国国家卫生和计划生育委员会发布公告, 将沙棘叶作为普通食品管理^[6]。现代药理研究表明, 沙棘叶中黄酮类和多酚类成分较多, 具有抗炎、抗氧化

及抗肿瘤等生物活性^[7]。近年来, 有学者发现, 沙棘叶可以有效控制高脂血症大鼠的体重增长, 改善血脂水平, 可被用于预防和治疗高脂血症^[8]。随后越来越多的实验研究也证实了沙棘叶的降脂作用^[9], 但这种作用是通过何种机制实现的还需进一步探索。课题组前期通过网络药理学方法分析了沙棘叶治疗高脂血症的药效物质基础, 发现 AMP 活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 信号通路可能是沙棘叶发挥降脂作用的关键机制之一^[10]。基于此, 本研究采用血清药理学方法, 探究沙棘叶对油酸/棕榈酸诱导的 HepG2 细胞脂质沉积模型的影响, 并进一步阐明 AMPK 信号通路在此过程中的关键作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及细胞 SPF 级雄性 SD 大鼠, 30 只, 体重 (200 ± 20) g, 购自成都达硕实验动物有限公司。实验动物生产许可证号: SCXK (川) 2020-0030; 实验动物使用许可证号: SYXK (川) 2020-001。本实验经陕西中医药大学伦理委员会批准 (SUCMDL20231024002)。大鼠均在陕西中医药大学临床中药实验室喂养, 自由饮水、进食。人肝癌细胞 (HepG2 细胞) 购自武汉博士德生物科技有限公司。

1.1.2 实验药品及试剂 沙棘叶产自新疆, 经陕西中医药大学卫培峰教授鉴定为正品; 阿托伐他汀钙片 (浙江乐普制药科技有限公司, 国药准字 H20133127); DMEM 细胞培养基 (货号: PYG0073)、CCK8 试剂盒 (货号: AR1160-500)、PBS (货号: PYG0021)、双缩脲法 (bicinchoninic acid assay, BCA) 蛋白浓度试剂盒 (货号: A20138)、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒 (货号: AR1196)、特超敏 ELC 化学发光试剂盒 (货号: AF3423) 均购自武汉博士德生物工程有限公司; 胎牛血清 (浙江天杭生物科技股份有限公司, 货号: 11011-8611); 0.25% 蛋白胰酶 (美国 GIBCO 公司, 货号: 25200056); 青链霉素混合液 (美国赛默飞世尔科技公司, 货号: J220010); 油红 O 染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 货号: G1262); TC、TG 试剂盒 (南京建成生物科技股份有限公司, 货号: A110-1-1、A111-1-1); 高脂诱导剂 (西安鲲鹏科技发展

有限公司, 货号: KC006); 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒 (货号: AC0201)、SPARKscript II All-in-one RT SuperMix for qPCR (With gDNA Eraser) (货号: AG0305-A)、2 × SYBR Green qPCR Mix (With ROX) (货号: AH0104) 均购自山东思科捷生物技术有限公司; AMPK 抗体 (货号: #2532)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (Acetyl-CoA carboxylase, ACC) 抗体 (货号: #3676)、肉碱棕榈酰转移酶 1 (carnitine palmitoyltransferase 1, CPT1) 抗体 (货号: #12252)、GAPDH 抗体 (货号: #2118) 均购自武汉博士德生物工程有限公司; P-AMPK 抗体 (江苏亲科生物研究中心有限公司, 货号: #50081); P-ACC 抗体 (上海雅酶生物医药科技有限公司, 货号: #11818)。

1.1.3 主要仪器 二氧化碳恒温培养箱 (上海一恒科技有限公司, 型号: BPN-50CH); 全自动酶标仪 (美国 BioTek 公司, 型号: ELx808); 低速离心机 (合肥科大创新股份有限公司, 型号: KDC-160HR); 高速离心机 (德国 Eppendorf 公司, 型号: 5430); 倒置显微镜 (浙江舜宇集团有限公司, 型号: OD500C); 实时荧光定量 PCR 仪 (美国赛默飞世尔科技公司, 型号: A40425); 超高灵敏度化学发光成像系统 (上海天能科技有限公司, 型号: Tanon 4600)。

1.2 方法

1.2.1 沙棘叶含药血清的制备 将 30 只 SD 大鼠适应性喂养 7 d 后, 随机分为空白组、阳性药组 (阿托伐他汀钙片组)、沙棘叶低剂量组 (SJYD 组)、沙棘叶中剂量组 (SJYZ 组)、沙棘叶高剂量组 (SJYG 组), 每组 6 只。空白组每日灌胃生理盐水, 阳性药组及 SJYD 组、SJYZ 组、SJYG 组按 60 kg 成年人计, 给药剂量为 20 g/d, 参照《药理实验方法学》换算方式, 大鼠的等效剂量为人的 6.3 倍, SJYD 组、SJYZ 组、SJYG 组沙棘叶水煎液浓度分别为 2.08、4.16、8.32 g/kg (按成人临床拟用剂量折算)。阿托伐他汀钙片用生理盐水配置成 2.08 mg/kg 的溶液。于 4 °C 冷藏备用^[11]。

1.2.2 细胞培养与模型制备 HepG2 细胞使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 在 37 °C、5% 二氧化碳恒温培养箱中培养, 细胞贴壁后传代。待细胞生长稳定后, 将细胞分为空白组、模型组、阳性药组、SJYD 组、SJYZ 组、SJYG 组。除空白组外, 其余各组均加入 2 mL 油酸-棕榈酸混合液 (2 : 1)

诱导 48 h, 制备 HepG2 细胞脂质沉积模型^[8]。

1.2.3 CCK-8 法筛选最适含药血清浓度 取对数生长期的 HepG2 细胞, 以每孔 1.0×10^5 个接种于 96 孔板中, 分为 0% 含药血清组、5% 含药血清组、10% 含药血清组、15% 含药血清组、20% 含药血清组及 25% 含药血清组, 每组设置 6 个复孔, 待细胞贴壁稳固生长后, 换液法给予相应浓度的含药血清干预 24 h。结束后每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液, 孵育 40 min, 通过酶标仪检测 450 nm 波长处的细胞活力。细胞存活率 (%) = $(A450_{\text{实验组}} - A450_{\text{空白组}}) / (A450_{0\% \text{含药血清组}} - A450_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.2.4 比色法测定细胞内总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)含量 细胞制备及给药方式同上。给药干预 24 h 后, 各孔加入胰酶消化 1 min, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基终止消化。收集各组细胞于离心管中, 离心后弃上清液, 细胞沉淀用 PBS 清洗, 再次离心后保留细胞沉淀。加入 0.2 mL PBS, 冰水浴条件下超声破碎制备匀浆液, 严格按照 TG、TC 试剂盒说明书进行含量测定。

1.2.5 油红 O 染色法观察 HepG2 细胞脂质沉积 取对数生长期的 HepG2 细胞, 以每孔 5×10^5 个接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁后, 加入油酸-棕榈酸诱导制备脂质沉积模型。除模型组外, 空白组、阳性药组、SJYD 组、SJYZ 组、SJYG 组分别给予含药血清处理 24 h, 弃去培养基, PBS 清洗 3 次, 用油红 O 固定液固定 30 min 后, 依次使用蒸馏水、异丙醇清洗。加入染色液浸染, 油红 O 缓冲液孵育 1 min 弃去, 在显微镜下观察。

1.2.6 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测 AMPK、ACC、CPT1 基因相对表达量 给予沙棘叶含药血清干预 24 h 后, 弃上清液, 收集各组细胞, 严格按照组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒说明书提取细胞总 RNA 并检测其浓度, 随后将 RNA 逆转录成 cDNA, 稀释后进行 qRT-PCR 分析, 反应体系: cDNA 1 μ L, $2 \times$ SYBR qPCR Mix 10 μ L, 正反向引物各 0.4 μ L, ROX Reference Dye II 0.4 μ L, RNase Free H₂O 补足至 20 μ L。反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 25 s, 94 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 25 s, 进行 40 个循环。引物由上海生物工程股份有限公司设计合成。以 GAPDH 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 AMPK、ACC 和 CPT1 基因相对表达量。见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列 5'-3'	长度/Bp
AMPK	正向: CCACAGAGATCGGGATCAGTTAGC	22
	反向: AGGTCAACAGGAGAAGAGTCAAGTG	21
ACC	正向: ACCTGCCGACTAGAGACACAATTCC	20
	反向: TCTTGGTGACTTGAGCGTGAGAG	20
CPT1	正向: CGCTACTTCAAGGTCTGGCTCTAC	21
	反向: GCTGAGGCTCCGAGGTATTGTC	20
GAPDH	正向: CAGGAGGCATTGCTGATGAT	18
	反向: GAAGGCTGGGGCTCATT	16

1.2.7 Western blotting 检测 P-AMPK/AMPK、P-ACC/ACC、CPT1 蛋白相对表达量 给予沙棘叶含药血清干预 24 h 后, 弃上清液, 收集各组细胞, 用 PBS 清洗 1 次。加入裂解液裂解细胞获得总蛋白, 采用 BCA 法检测蛋白浓度。加入适量蛋白上样缓冲液(含还原剂), 100 $^{\circ}$ C 加热变性 5 min。取变性蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 根据蛋白分子量调整转膜时间, 转膜完成后在 5% 的脱脂奶粉中室温下摇床封闭 1 h, 一抗孵育 4 $^{\circ}$ C 过夜(目的蛋白稀释比为 1:1 000, 内参蛋白稀释比为 1:10 000)。二抗常温慢摇孵育 1 h(稀释液比为 1:8 000)。孵育结束后, 将膜放入 TBST 中清洗 3 次, 随后放入显影仪中, 加入显影液显影, 并分析条带灰度值。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 26.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 比较用方差分析, 两两比较用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞最适含药血清浓度

CCK-8 实验结果显示: 0%、5%、10%、15%、20%、25% 含药血清组细胞存活率分别为 $(100 \pm 0.00)\%$ 、 $(91.39 \pm 1.96)\%$ 、 $(93.41 \pm 5.60)\%$ 、 $(81.50 \pm 6.09)\%$ 、 $(65.20 \pm 3.93)\%$ 、 $(62.23 \pm 2.91)\%$ 。各组细胞存活率比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 64.237, P = 0.000$); 0% 含药血清组与 10% 含药血清组细胞存活率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。随着血清浓度升高 ($>10\%$), 细胞存活率逐渐降低 ($P < 0.05$)。故选择 10% 含药血清浓度进行后续实验。见图 1。

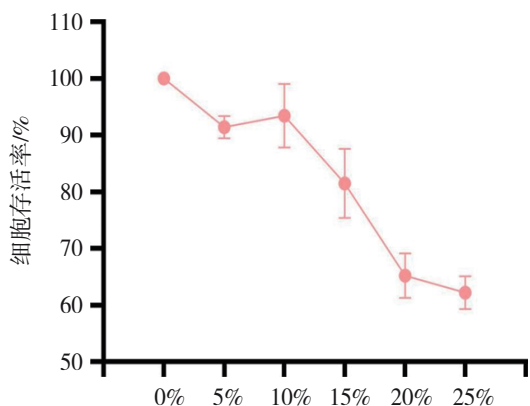


图 1 不同浓度含药血清对 HepG2 细胞存活率的影响

2.2 各组 HepG2 细胞脂质沉积结果

与空白组细胞相比, 模型组细胞经油酸/棕榈酸诱导后产生大量脂滴, 其余各组经含药血清干预后, 脂滴数目明显减少, 其中阳性药组及 SJYG 组表现最佳。见图 2。

2.3 各组 TG、TC 水平比较

各组 TG、TC 水平比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组比, 模型组细胞 TG、TC 水平均升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 阳性药组、SJYZ 组、SJYG 组的 TG、TC 水平均降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 各组 AMPK、ACC、CPT1 基因相对表达量比较

各组 AMPK、ACC、CPT1 基因相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组相比, 模型组 HepG2 细胞中

表 2 各组 TG、TC 水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

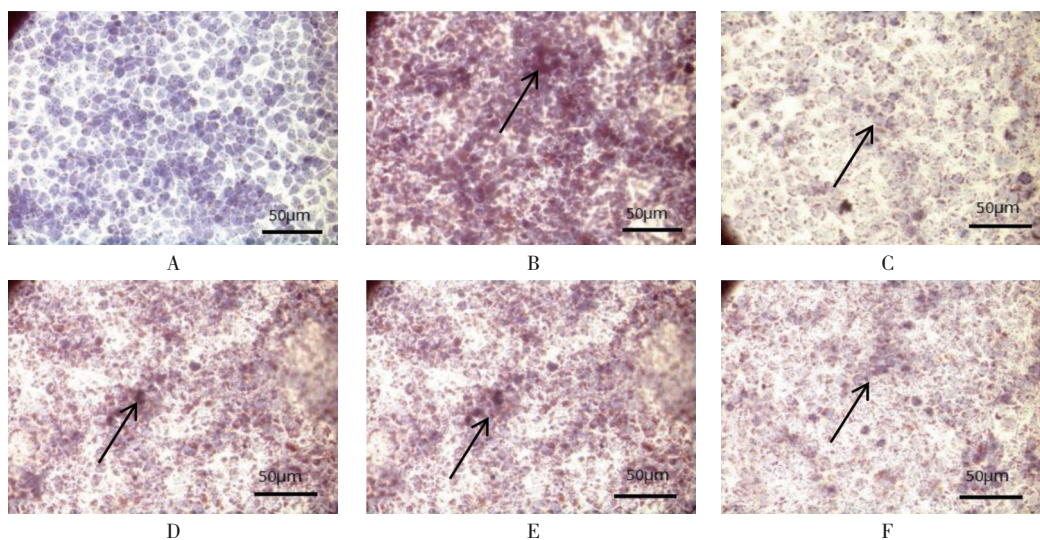
组别	TG	TC
空白组	0.299 ± 0.052	0.062 ± 0.002
模型组	1.044 ± 0.075 ^①	0.081 ± 0.002 ^①
阳性药组	0.537 ± 0.055 ^②	0.061 ± 0.001 ^②
SJYD 组	0.793 ± 0.043 ^②	0.075 ± 0.006
SJYZ 组	0.702 ± 0.080 ^②	0.061 ± 0.002 ^②
SJYG 组	0.409 ± 0.078 ^②	0.063 ± 0.001 ^②
F 值	68.969	17.339
P 值	0.000	0.004

注: ①与空白组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。

AMPK、CPT1 基因相对表达量均降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 阳性药组、SJYZ 组、SJYG 组 AMPK 基因相对表达量均升高, ACC 基因的相对表达量均降低, 阳性药组和 SJYZ 组 CPT1 基因相对表达量均升高 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.5 各组 P-AMPK/AMPK、P-ACC/ACC、CPT1 蛋白相对表达量比较

各组 P-AMPK/AMPK、P-ACC/ACC、CPT1 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组相比, 模型组 HepG2 细胞中 P-AMPK/AMPK、P-ACC/ACC 及 CPT1 蛋白相对表达量均降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 各给药组 P-AMPK/AMPK 和 CPT1 蛋白相对表达量均升高, 阳性药组、SJYZ 组、SJYG 组 P-ACC/ACC 蛋白相对表达量均升高 ($P < 0.05$)。见表 4 和图 3。



A: 空白组; B: 模型组; C: 阳性药组; D: SJYD 组; E: SJYZ 组; F: SJYG 组; 黑色箭头表示脂滴。

图 2 各组 HepG2 细胞脂质沉积结果 (油红 O 染色 × 400)

表 3 各组 AMPK、ACC、CPT1 基因相对表达量比较
($\bar{x} \pm s$)

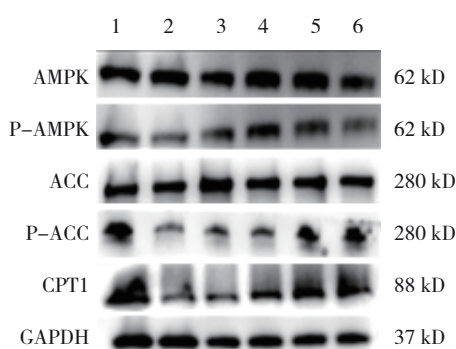
组别	AMPK 基因	ACC 基因	CPT1 基因
空白组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型组	0.53 ± 0.03 ^①	1.42 ± 0.03 ^①	0.58 ± 0.03 ^①
阳性药组	0.71 ± 0.06 ^②	0.92 ± 0.12 ^②	0.84 ± 0.04 ^②
SJYD 组	0.66 ± 0.08	1.17 ± 0.11	0.74 ± 0.02
SJYZ 组	0.74 ± 0.05 ^②	1.08 ± 0.16 ^②	0.84 ± 0.03 ^②
SJYG 组	0.83 ± 0.03 ^②	1.07 ± 0.11 ^②	0.74 ± 0.08
F 值	32.051	7.989	13.336
P 值	0.000	0.002	0.020

注：①与空白组比较， $P < 0.05$ ；②与模型组比较， $P < 0.05$ 。

表 4 各组 P-AMPK/AMPK、P-ACC/ACC、CPT1 蛋白
相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	P-AMPK/AMPK 蛋白	P-ACC/ACC 蛋白	CPT1 蛋白
空白组	0.74 ± 0.10	0.75 ± 0.13	0.80 ± 0.11
模型组	0.34 ± 0.04 ^①	0.32 ± 0.05 ^①	0.39 ± 0.09 ^①
阳性药组	0.71 ± 0.14 ^②	0.48 ± 0.08 ^②	0.61 ± 0.07 ^②
SJYD 组	0.70 ± 0.19 ^②	0.55 ± 0.19	0.62 ± 0.04 ^②
SJYZ 组	0.72 ± 0.16 ^②	0.64 ± 0.01 ^②	0.65 ± 0.03 ^②
SJYG 组	0.67 ± 0.14 ^②	0.87 ± 0.13 ^②	0.66 ± 0.10 ^②
F 值	3.817	13.187	8.920
P 值	0.027	0.022	0.001

注：①与空白组比较， $P < 0.05$ ；②与模型组比较， $P < 0.05$ 。



1:空白组; 2:模型组; 3:阳性药组; 4: SJYD 组; 5: SJYZ 组; 6: SJYG 组。

图 3 各组相关蛋白的表达条带

3 讨论

“高脂血症”在中医古籍中无对应病名，其相关论述散见于“痰湿”“痰浊”“血瘀”等范畴。其发病机制主要归因于饮食不节、劳逸失调、情志内伤或年老体衰等因素，导致肝、脾、肾三脏功能失常，水液输布代谢障碍，从而生成上述病理产物，继而致

病^[12]。中医药基于辨证思想指导，具有多组分、多靶点协同的治疗特点，强调标本兼治且安全性较好。因此，在治疗高脂血症等复杂慢性病时，展现出整体调节的独特优势^[13]。沙棘叶中含有丰富的总黄酮和多酚化合物，具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤的作用^[14]。何跃生^[8]等首次探究了沙棘叶提取物对实验性高脂血症大鼠的调脂作用，发现沙棘叶能有效恢复高脂血症大鼠血脂水平，具有一定降脂作用。不仅如此，有研究报道，沙棘叶总黄酮^[15]、沙棘叶多糖及沙棘叶发酵茯苓^[16]也具有显著的降血脂活性，在治疗高脂血症方面有着广阔的开发价值。本课题组前期利用网络药理学预测发现 AMPK 信号通路可能是沙棘叶发挥作用的可能机制之一^[10]。因此，本实验利用 HepG2 细胞制备细胞脂质沉积模型，并采用沙棘叶含药血清对其降脂活性及机制进行验证。

AMPK 是一种由 α 亚基、 β 亚基、 γ 亚基 3 种不同亚基组成的异三聚体复合物^[17]。近年来，AMPK 在心血管功能中的保护作用，以及功能失调的 AMPK 在心血管疾病发病机制中的作用受到了广泛关注^[18]。作为维持能量稳态的主要传感器和调节器^[19]，AMPK 能精准感受到体内 AMP 水平的变化。当人体处于能量缺乏状态、AMP/ATP 比值升高时，AMP 会与 AMPK 的 γ 亚基结合导致 AMPK 的变构激活，这是激活 AMPK 信号通路最经典的途径^[20]。此外，AMPK 上游激酶肝激酶 B1 (LKB1)、钙调素依赖性蛋白激酶 (CaMKK β)、转化生长因子- β 激活激酶 1 (Tak1) 也能磷酸化 AMPK α 亚基末端保守的苏氨酸 (Thr172) 位点从而激活 AMPK^[21]。激活状态的 AMPK 通路可正向调节脂肪酸氧化等分解代谢以生成 ATP，并负向调节胆固醇合成等合成代谢以减少 ATP 消耗，以此纠正能量失衡^[22]。因此，AMPK 信号通路在机体能量和物质代谢中发挥着重要调节作用。AMPK 拥有众多下游靶点，能够抑制 ACC 的活性。ACC 是脂肪酸合成过程中的关键限速酶，能将脂肪酸合成的直接底物——乙酰辅酶 A——羧化生成丙二酰辅酶 A。ACC 包括 ACC1、ACC2 两种亚型，其中 ACC1 主要在肝脏、脂肪等脂肪生成组织中表达，而 ACC2 在心脏、骨骼、肌肉等脂肪生成和氧化组织中高度表达。激活后的 AMPK 能分别磷酸化 ACC1 上的 Ser79 位点及 ACC2 上的 Ser212 位点致使 ACC 失活，从而抑制脂肪酸的合成^[23]。此外，丙二酰

辅酶 A 还能有效抑制 CPT1 的活性, CPT1 位于线粒体外膜上, 是脂肪酸氧化的关键限速酶^[24]。脂肪酸氧化是脂肪酸在体内分解并释放大量能量从而为机体供能的过程, 这个过程首先将脂肪酸活化形成脂酰 CoA, 形成的脂酰 CoA 必须与 CPT1 结合进入线粒体, 在线粒体内进行氧化产生能量^[25]。因此, CPT1 与脂酰 CoA 的结合水平影响着脂肪酸氧化的速率。而 AMPK 通过抑制 ACC 的活性, 使丙二酰辅酶 A 生成减少, 从而增强 CPT1 的活性, 最终促进脂肪酸氧化。

本实验结果显示, 经沙棘叶含药血清干预后, 能显著降低高脂血症模型 HepG2 细胞内 TG 和 TC 水平, 改善脂质沉积。同时本实验通过检测分析 HepG2 细胞中 AMPK、P-AMPK、ACC、P-ACC、CPT1 的蛋白表达, 发现沙棘叶各剂量组 P-AMPK/AMPK、CPT1 蛋白表达均升高, 证明沙棘叶能通过影响 AMPK/ACC/CPT1 通路降低 HepG2 细胞脂质沉积, 且呈浓度依赖性。

综上所述, 沙棘叶能有效改善细胞的脂质沉积, 这种作用是通过影响 AMPK/ACC/CPT1 通路, 从而抑制脂肪酸合成, 促进脂肪酸氧化实现的。

参 考 文 献 :

- [1] 刘明波, 何新叶, 杨晓红, 等. «中国心血管健康与疾病报告 2023»要点解读[J]. 中国全科医学, 2025, 28(1): 20-38.
- [2] FAN X C, HAN J, ZHANG F, et al. Red yeast rice: a functional food used to reduce hyperlipidemia[J]. Food Rev Int, 2023, 39(8): 4965-4991.
- [3] 陶晓宇, 高艺菲, 金政森, 等. 降脂通络软胶囊治疗高脂血症作用机制的网络药理学分析[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(11): 1566-1574.
- [4] 张依娜, 赵锋, 唐瑜, 等. 中药通过 AMPK 信号通路防治高脂血症研究进展[J]. 中南药学, 2025, 23(5): 1369-1376.
- [5] 李月, 刘青, 王悦, 等. 沙棘叶的应用及现代研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(6): 1326-1332.
- [6] 高峰, 郭延丽, 刘巧, 等. 沙棘叶子研究利用综述[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(10): 7-11.
- [7] 许甜, 吴萌, 葛世辉, 等. 沙棘果、叶的研究进展[J]. 今日药学, 2024, 34(6): 466-472.
- [8] 何跃生, 于云, 曲树明. 沙棘叶提取物对高脂血症大鼠的调血脂作用[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 144-145.
- [9] 丁肇俊, 叶健文, 马佳琪, 等. 沙棘叶化学成分及药理作用研究进展[J]. 世界中医药, 2023, 18(5): 714-720.
- [10] 唐瑜, 张依娜, 邹远荣, 等. 沙棘叶治疗高脂血症的药效物质基础[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(22): 116-122.
- [11] 张君涛, 王平, 刘爱峰, 等. 中药含药血清制备方法的研究概述[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(11): 4006-4009.
- [12] 周婷. 降脂通络软胶囊对原发性高脂血症(气滞血瘀证)患者甘油三酯影响的临床研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.
- [13] 田时秋, 李依林, 裴海鸾, 等. 高脂血症发病机制及药物治疗[J]. 生命的化学, 2022, 42(12): 2237-2247.
- [14] 冉贝贝, 李卫东. 沙棘果与沙棘叶化学成分及其差异的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(9): 1767-1773.
- [15] 孙天宇. 沙棘叶黄酮的提取分离及降血脂作用小鼠试验的研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2012.
- [16] CHEN S K, WEI W X, HUANG F Y, et al. Research on the mechanism of sea buckthorn leaf Fu tea in the treatment of hyperlipidemia[J]. Heliyon, 2024, 10(12): e32343.
- [17] PENUGURTI V, MANNE R K, BAI L, et al. AMPK: the energy sensor at the crossroads of aging and cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2024, 106-107: 15-27.
- [18] RODRÍGUEZ C, MUÑOZ M, CONTRERAS C, et al. AMPK, metabolism, and vascular function[J]. FEBS J, 2021, 288(12): 3746-3771.
- [19] YAN Y, ZHOU X E, XU H E, et al. Structure and physiological regulation of AMPK[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(11): 3534.
- [20] STEINBERG G R, HARDIE D G. New insights into activation and function of the AMPK[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24(4): 255-272.
- [21] LI J, LI S Y, WANG F Z, et al. Structural and biochemical insights into the allosteric activation mechanism of AMP-activated protein kinase[J]. Chem Biol Drug Des, 2017, 89(5): 663-669.
- [22] LIN S C, HARDIE D G. AMPK: sensing glucose as well as cellular energy status[J]. Cell Metab, 2018, 27(2): 299-313.
- [23] GUO T L, YAN W H, CUI X, et al. Liraglutide attenuates type 2 diabetes mellitus-associated non-alcoholic fatty liver disease by activating AMPK/ACC signaling and inhibiting ferroptosis[J]. Mol Med, 2023, 29(1): 132.
- [24] SU W, XU F D, ZHONG J J, et al. Screening of CPT1A-targeting lipid metabolism modulators using mitochondrial membrane chromatography[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2024, 16(10): 13234-13246.
- [25] 吕丹, 金迪, 隋国媛, 等. 基于 AMPK 调控 ACC/CPT1 信号通路介导脂肪酸代谢探究化痰祛痰方含药血清对 HepG2 细胞脂质沉积的影响[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(3): 194-197.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 陈金品, 张依娜, 陈婕妤, 等. 沙棘叶对 HepG2 细胞脂质沉积的影响及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2026, 36(11): 43-49.

Cite this article as: CHEN J P, ZHANG Y N, CHEN J Y, et al. Study on the effect and mechanism of seabuckthorn leaves on lipid deposition in HepG2 cells[J]. China Journal of Modern Medicine, 2026, 36(11): 43-49.