

科技成果登记表

(基础理论、软科学类成果)

一、成果概况

1. 成果名称	基于脂联素的多聚化修饰探讨祛湿活血方治疗非酒精性脂肪肝的分子机制		
2. 关键词	①祛湿	②活血方	③酒精性脂肪肝
3. 成果水平	未评价	4. 成果体现形式	论文
5. 研究形式		6. 成果类别	基础理论
7. 社会经济目标			
8. 主要应用行业	卫生, 社会保障和社会福利业		
9. 学科分类	①360.10	②	
10. 中图分类	①R259	②	
11. 研究起始日期	2014-01	12. 研究终止日期	2017-12

二、立项情况

1. 课题来源	国家科技计划	2. 国家科技计划子类别	基础研究计划
3. 课题立项名称		4. 课题立项编号	8136059
5. 经费实际投入额(万元)	70.		

三、评价情况

1. 评价方式	结题	2. 评价单位	国家自然科学基金委员会
3. 评价日期	2018-03-20	4. 评价报告编号	
5. 评价委员会名单			

四、成果完成单位情况

1. 第一完成单位名称	广西中医药大学		
2. 通讯地址	广西壮族自治区南宁市城北区明秀东路 179 号		
3. 邮政编码	530001		
4. 电话	0771-3137535		
5. 传真	0771-3137517		
6. 网址	http://www.gxtcmu.edu.cn		
7. 单位属性	大专院校	8. 企业经济类型	
9. 所在省市	广西壮族自治区		
10. 联系人	蒋敏捷		
11. 联系人电话	0771-3941063		
12. 电子信箱			
13. 成果合作完成单位			
14. 成果完成人员名单	刘旭东;唐友明;陈黎;赵晓芳;童汪霞;林海;刘容;沈震;梁真		

15. 单位简介

广西中医药大学坐落在绿城南宁,是中西部高校基础能力建设工程(小 211 工程)建设高校。2012 年 1 月 13 号经国家委员会投票成功将广西中医学院更名为广西中医药大学,经过多年来的不断建设,现已发展成为一所以医药学科为主,拥有医学、工学、管理学等多个学科门类,集教学、科研、医疗和药品生产于一体的高等中医药院校,在壮医药教育方面形成了鲜明的办学特色。

五、成果采集信息

1. 成果密级	非密	2. 是否公开	1
3. 信息来源	管理渠道	4. 部门登记号	201816454
5. 来源渠道及经手人			

6. 成果入库年份	2020	7. 资源采集日期	2020-06-10
-----------	------	-----------	------------

六、成果简介

一、课题来源与背景

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease,NAFLD)的发病率越来越高,其作为代谢综合症在肝脏的表现,常合并高脂血症、高血压、高尿酸、血管病变、高血糖等,长期的进展可导致肝硬化。目前对本病的治疗,现代医学缺乏有效安全的药物,常用的保护肝功能的药物不能改善肝脏脂质代谢状况,降脂药物有肝脏损害的特点,改善胰岛素抵抗的药物如吡格列酮等由于其安全性和副作用也影响其长期使用,维生素 E 临床用于脂肪肝可改善肝脏病理情况,但是其大剂量的长期使用,安全性有待进一步研究确定。中医药治疗本病的优势不是对某一指标直接降低或升高,而是多靶点、多途径,对导致疾病的多个环节进行调控。脂联素是体内目前被证实的唯一一种肝脏保护性细胞因子,其作为 NAFLD 重要的治疗靶点,越来越受到重视。脂联素由脂肪细胞合成分泌,主要抑制肝脏脂肪合成,促进脂肪氧分解,增强周围组织对胰岛素的敏感性。其在血液存在三种形式,即三聚体、六聚体和高分子量(HMW)形式,其中高分子量的形式在体内起主要的活性作用。所以促使脂联素的多聚化是启动其保护肝脏的开始。脂联素多聚化的启动主要受近几年发现的一个关键的分子伴侣二硫键 A 氧化还原酶样蛋白(disulfide-bond A oxidoreductase-like protein,DsbA-L)的调节;DsbA-L 在脂肪细胞外主要受 NAFLD 的核心细胞因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的调节,TNF- α 可抑制 DsbA-L 的表达和脂联素的多聚化修饰;在脂肪细胞内,受 AMPK 和 Akt/FOXO1 两条信号通路调节,其中 Akt/FOXO1 的活化可下调 DsbA-L 表达和抑制脂联素多聚化,AMPK 的活化可上调 DsbA-L 的表达和促进脂联素的多聚化。因此,研究脂联素的多聚化调节机制对于靶向治疗 NAFLD 具有非常重要的意义。祖国医学认为 NAFLD 的病机主要是湿瘀互结。胡义扬教授曾根据循证医学要求,对公开发表文献进行分析,显示脂肪肝证型出现频次前 5 位为湿瘀互结、肝郁脾虚、湿热内蕴、气滞血瘀、肝肾阴虚(频次分别为 49.0%、17.1%、11.7%、3.9%、3.6%),湿瘀互结为 NAFLD 的主要证型。我们以此法立方,名“祛湿活血方”(由虎杖、丹参、酒大黄、茵陈、绞股蓝、干荷叶、柴胡组成),兼顾 NAFLD 常见证型。方中虎杖、茵陈祛湿并清肝中郁热;酒大黄、丹参活血通络;绞股蓝、干荷叶健脾渗湿;柴胡疏肝以利于祛湿活血。组方以祛湿活血为主线,佐以疏肝、清热之品,舒畅肝络,清解郁热。该方临床治疗显示出明显的优势。我们先前的临床研究,用祛湿活血方治疗 NAFLD40 例,并且以饮食运动控制组最为对照,发现本方可明显降低 NAFLD 患者血清甘油三酯水平,减轻 NAFLD 患者肝脏脂肪沉积程度。我们假设祛湿活血方在脂肪细胞外主要阻断 TNF- α 介导的 DsbA-L/HMW 脂联素的表达;在细胞内,主要通过 AMPK 和 Akt/FOXO1 两条通路而调节 DsbA-L/HMW 脂联素的表达。基于以上研究结果和假设,该课题进行了更深入的研究,从调控脂肪细胞 HMW 脂联素的多聚化修饰角度,研究祛湿活血方在脂肪细胞内外对脂联素多聚化过程中主要信号分子的调节机制。此研究为祛湿活血方治疗 NAFLD 的精确靶点寻找新的依据,对阐明中医药治疗 NAFLD “多因、多效、多靶点”的机制提供支持。

二、研究目的与意义

该研究在理论上进一步验证了 AKT/FOXO1 通路以及 AMPK 通路对 HMW 脂联素表达所必须的分子伴侣 DsbA-L 进行调控,而且探讨了临床广泛使用的以祛湿活血病机建立的对脂肪肝治疗的有效方药的分子机制,阐明了其不仅在脂肪细胞外可以改善 TNF- α 对脂联素分泌和合成的抑制,也阐明了其可抑制脂肪细胞 AKT/FOXO1 通路活化,而促进 AMPK 通路活化,进而调节 DsbA-L 的表达和脂联素的多聚化,为中药多靶点,多效应的疗效提供了新的证据。

三、主要论点与论据

APN 是 NAFLD 中的主要起保护作用的脂肪细胞分泌因子,其多聚化、分泌、合成均受 DsbA-L 调节。而 AMPK 通路活化对 DsbA-L 的表达起主要的调控作用。祛湿清热、疏肝活血中药治疗脂肪肝,可能通过调节 AMPK 而调控 D 对 DsbA-L/APN 的调控作用。

四、创建与创新

本研究通过 Westernblot 法检测祛湿活血方治疗后大鼠脂肪组织 DsbA-L、HMW 的表达,发现祛湿活血方明显促进了大鼠脂肪组织 DsbA-L 和 HMW 的表达,这说明,祛湿活血方可能是通过促进 DsbA-L 表达影响 APN 的分泌、合成和多聚化的。

五、社会经济效益

存在问题该项目研究中存在的问题主要在于脂肪细胞的培养、诱导分化难度较大,操作困难,费时费力,我们一部分在原代细胞的实验结果不稳定。另外构建腺病毒载体时出现抑制靶蛋白效果不好情况,已改用慢病毒载体完成了实验。尽管出现了一些困难和难点,但是该项目研究达到了预期目标。该研究在动物和细胞水平阐明了祛湿活血方治疗非酒精性脂肪肝的作用及机制,下一步你进行产品转化,进行申请专利并开展产品转化的研究。

六、历年获奖情况

通过本项目的实施,课题组以此为基础,申请课题“JNK1 调节非酒精性脂肪肝小鼠脂联素多聚化表达的分子机制研究”,已获立项,获得广西自然科学基金资助(项目编号:2016GXNSFAA380251)