

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.24.002
文章编号: 1005-8982 (2021) 24-0007-06

消化系统疾病专题·论著

蓝莓花青素对油酸诱导肝细胞脂肪变性小鼠 Plin5蛋白表达的影响*

李晨驰¹, 韩萧萧¹, 杨柳¹, 张景允¹, 刘冉阳¹, 杨勤²

(贵州医科大学 1.病理生理学教研室, 2.贵州省常见慢性疾病发病机制及药物研究
重点实验室, 贵州 贵阳 550000)

摘要: 目的 观察蓝莓花青素对油酸诱导AML12小鼠肝细胞脂肪变性过程中Plin5蛋白表达的影响, 探讨其可能的机制。**方法** 培养AML12小鼠肝细胞, 取对数生长期细胞分为对照组、油酸诱导组、维生素C组和蓝莓花青素组, 每组设置3个复孔。对照组用DMEM/F12培养基培养; 油酸诱导组、维生素C组及蓝莓花青素组用含0.75 mmol/L油酸的培养基处理24 h, 复制小鼠肝细胞脂肪变性模型。模型复制成功后, 采用具有抗氧化活性的水溶性维生素C作为阳性对照, 维生素C组及蓝莓花青素组分别更换含50 $\mu\text{g/ml}$ 维生素C及50 $\mu\text{g/ml}$ 蓝莓花青素的培养基培养24 h。采用微板法测定各组细胞培养液上清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)水平及细胞内甘油三酯(TG)含量; 油红O染色观察细胞内脂滴沉积情况; Western blotting检测AML12细胞Plin5、PI3K、P-Akt蛋白的表达。**结果** 100 $\mu\text{g/ml}$ 、150 $\mu\text{g/ml}$ 、200 $\mu\text{g/ml}$ 组细胞指数较0 $\mu\text{g/ml}$ 组下降($P < 0.05$)。蓝莓花青素处理24 h后100 $\mu\text{g/ml}$ 组抑制率为14.4%, 而50 $\mu\text{g/ml}$ 组未显示。油酸诱导组ALT、AST、TG水平较对照组升高($P < 0.05$), 维生素C组、蓝莓花青素组较油酸诱导组降低($P < 0.05$), 蓝莓花青素组较维生素C组降低($P < 0.05$)。油酸诱导组积分光密度值较对照组升高($P < 0.05$), 维生素C组、蓝莓花青素组较油酸诱导组降低($P < 0.05$), 蓝莓花青素组较维生素C组降低($P < 0.05$)。油酸诱导组Plin5、PI3K、P-Akt蛋白相对表达量较对照组升高($P < 0.05$), 维生素C组、蓝莓花青素组细胞较油酸诱导组降低($P < 0.05$), 蓝莓花青素组细胞较维生素C组降低($P < 0.05$)。**结论** 蓝莓花青素对油酸所致小鼠肝细胞脂肪变性有一定的改善作用, 该机制可能与抑制PI3K/Akt信号通路调控的Plin5蛋白表达、减少了油酸诱导的肝细胞脂滴形成有关。

关键词: 肝细胞脂肪变性; 蓝莓花青素; 增殖; 小鼠

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

Effect of blueberry anthocyanin on the expression of Plin5 in mice with hepatocyte steatosis induced by oleic acid*

Chen-chi Li¹, Xiao-xiao Han¹, Liu Yang¹, Jing-yun Zhang¹, Ran-yang Liu¹, Qin Yang²

(1.Department of Pathophysiology, 2.Guizhou Provincial Key Laboratory of Pathogenesis & Drug Research
on Common Chronic Diseases, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550000, China)

Abstract: Objective To observe the effect of blueberry anthocyanin on the expression of Plin5 in mice with hepatocyte steatosis induced by oleic acid, and to elucidate its possible mechanism. **Methods** The AML12 (alpha mouse liver 12) hepatocytes were cultured and the exponential phase cells were then divided into control group, oleic acid-induced group, vitamin C group, and blueberry anthocyanin group, each tested in triplicate. The cells in the control group were cultured in DMEM/F12 medium, while those in the oleic acid-induced group, vitamin C group,

收稿日期: 2021-07-05

* 基金项目: 国家自然科学基金(No:81460484)

[通信作者] 杨勤, E-mail: qinyang@gmc.edu.cn; Tel: 0851-6908489

and blueberry anthocyanin group were treated with the medium containing 0.75 mmol/L oleic acid for 24 h to establish cell models of hepatocyte steatosis. After successful modeling, water-soluble vitamin C with antioxidant activity was used as the positive control drug, and the cells in the vitamin C group and blueberry anthocyanin group were treated with the medium containing 50 $\mu\text{g/ml}$ vitamin C and 50 $\mu\text{g/ml}$ blueberry anthocyanin for another 24 h, respectively. The levels of alanine transaminase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in the supernatant of the cell culture medium and the intracellular triglyceride (TG) content in each group were determined by the microplate-reader method. The lipid droplet deposition in the cells was observed by oil red O staining. The expression of Plin5, PI3K, and P-Akt in AML12 cells was detected by Western blotting. **Results** The cell index in the groups treated with 100 $\mu\text{g/ml}$, 150 $\mu\text{g/ml}$, and 200 $\mu\text{g/ml}$ blueberry anthocyanin was lower than that in the group without the treatment of blueberry anthocyanin ($P < 0.05$). The inhibition rate was 14.4% in the group treated with 100 $\mu\text{g/ml}$ blueberry anthocyanin, but the inhibitory effect was slight when the concentration of blueberry anthocyanin was 50 $\mu\text{g/ml}$. Compared with the control group, the levels of ALT and AST, the intracellular TG content, the integrated optical density (IOD) of the lipid droplets, and the expression levels of Plin5, PI3K, and P-Akt proteins in the oleic acid-induced group were increased ($P < 0.05$). Compared with the oleic acid-induced group, the levels of ALT and AST, the intracellular TG content, the IOD of lipid droplets, and the expression levels of Plin5, PI3K, and P-Akt proteins in the vitamin C group and blueberry anthocyanin group were decreased ($P < 0.05$). Compared with the vitamin C group, the levels of ALT and AST, the intracellular TG content, the IOD of lipid droplets, and the expression levels of Plin5 and PI3K proteins in the blueberry anthocyanin group were even decreased ($P < 0.05$). **Conclusions** Blueberry anthocyanin ameliorates the hepatocyte steatosis induced by oleic acid in mice to some extent. The underlying mechanisms may be related to the inhibition of the expression of Plin5 regulated via PI3K/Akt signaling pathway and the reduce in the formation of lipid droplets induced by oleic acid in the hepatocytes.

Keywords: hepatocyte steatosis ; blueberry anthocyanin; proliferation; mice

非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 指除酒精和其他明确损伤肝脏的因素之外, 发生的以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变性为主要病理特征的临床病理综合征^[1]。目前研究认为, 在一定程度上, 肝脏脂肪变性是有可能逆转的; 而一旦进展为肝炎、肝纤维化, 治疗难度将会增大。因此, 近年来许多研究都致力于通过不同的手段, 包括食疗、药物等改善 NAFLD^[2]。本课题组前期研究及其他学者的研究发现, 蓝莓具有一定的预防和改善脂肪肝的作用, 这为 NAFLD 的非药物治疗法提供了新思路, 但其机制尚未完全阐明^[3-4]。

脂滴包被蛋白 5 (Perilipin5, Plin5) 是 Perilipin 家族的最新成员。已有研究显示, Plin5 作为脂滴形成的关键蛋白之一, 在维持细胞内脂质稳态和代谢平衡中具有重要作用^[5], 且 Plin5 的表达受 PI3K/Akt 信号通路的影响^[6]。同时, 有研究发现, 富含黄酮类化合物的碧萝芷能够影响油酸诱导的 Plin5 蛋白表达^[7], 而蓝莓中含有大量黄酮类化合物——花青素^[8]。由此推测蓝莓改善肝脂肪变性的作用可能与蓝莓富含的花青素调节肝细胞 Plin5 蛋白的表达有关。

故本研究以油酸 (oleic acid, OA) 诱导 AML12 小

鼠肝细胞发生脂肪变性, 复制 NAFLD 模型, 在此基础上观察蓝莓花青素对油酸诱导的肝细胞脂肪变性及损伤是否具有改善作用, 并观察 Plin5 蛋白表达与脂滴形成的关系。

1 材料与方法

1.1 一般材料与仪器

AML12 小鼠正常肝细胞株购自中国科学院干细胞库, 蓝莓花青素购自陕西萃雅佳生物科技有限公司, 油酸购自美国 Sigma 公司, 胎牛血清购自美国 Scien Cell 公司, DMEM/F12 培养基购自美国 Gibco 公司, 油红 O 细胞专用染色试剂盒购自北京 Solarbio 公司, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体购自武汉 ABelonal 公司, Plin5 多克隆抗体购自美国 Proteintech 公司, 磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K)、磷酸化蛋白激酶 (phospho-protein kinase B, Akt) 抗体购自美国 CST 公司, 甘油三酯 (Triglyceride, TG)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 检测试剂盒购自南京建成科技有限公司, xCELLigence RTCA

DP 型实时无标记细胞分析仪(real time cellular analysis, RTCA)购自杭州艾森生物有限公司。

1.2 方法

1.2.1 最佳蓝莓花青素终浓度的确定 AML12 小鼠肝细胞用含 10% 胎牛血清、1% 双抗的 DMEM/F12 培养基,在 37℃、5% 二氧化碳的无菌培养箱中培养。采用实时无标记细胞分析技术检测蓝莓花青素对 AML12 细胞增殖的影响。取对数生长期的细胞制成细胞悬液进行计数,接种密度为 5×10^3 个/孔 ($150 \mu\text{l}$ /孔),设置 3 个复孔。接种细胞 24 h 后,以不同终浓度的蓝莓花青素 ($0 \mu\text{g/ml}$ 、 $50 \mu\text{g/ml}$ 、 $100 \mu\text{g/ml}$ 、 $150 \mu\text{g/ml}$ 、 $200 \mu\text{g/ml}$) 培养基培养,并分别设置为 $0 \mu\text{g/ml}$ 组、 $50 \mu\text{g/ml}$ 组、 $100 \mu\text{g/ml}$ 组、 $150 \mu\text{g/ml}$ 组、 $200 \mu\text{g/ml}$ 组。连续动态监测 ≥ 65 h,每 15 min 记录 1 次。抑制率 (%) = $(0 \mu\text{g/ml}$ 组 - 不同浓度蓝莓花青素组) / $0 \mu\text{g/ml}$ 组 $\times 100\%$ 。根据实验结果选择对细胞生长抑制非常低的蓝莓花青素浓度 ($50 \mu\text{g/ml}$) 作为后续实验的干预浓度。

1.2.2 细胞分组及肝细胞脂肪变性模型复制 取对数生长期细胞,按照每孔 1.25×10^5 个/ml 细胞密度接种于 6 孔板,分别设置对照组、油酸诱导组、维生素 C 组、蓝莓花青素组。对照组常规培养基培养,油酸诱导组、维生素 C 及蓝莓花青素组,根据参考文献[9]及预实验结果,选择含 0.75 mmol/L 油酸的培养基培养 24 h,复制小鼠肝细胞脂肪变性模型。复制成功后,维生素 C 组及蓝莓花青素组分别更换含 $50 \mu\text{g/ml}$ 维生素 C 及 $50 \mu\text{g/ml}$ 蓝莓花青素的培养基培养 24 h。收集细胞,检测各项指标。

1.2.3 ALT、AST、TG 水平检测 细胞按照 7.5×10^5 个/ml 密度培养于直径 60 mm 培养皿。收集细胞培养液上清,根据试剂盒操作说明进行加样,测定各孔光密度(OD)值。按照液体样本计算公式:绝对 OD 值 = 测定孔 OD 值 - 对照孔 OD 值,参考试剂盒标准曲线,检测 ALT、AST 活力单位。收集细胞, $1\,000 \text{ r/min}$ 离心 10 min,弃上清,留细胞沉淀,分别加入等量 PBS 清洗 2 次。再次加入 PBS,在冰浴条件下将细胞进行超声破碎,制备好匀浆后不离心,按照操作表进行加样,每组重复 3 次,测定各孔 OD 值。并以 BCA 法测定蛋白浓度。按照细胞计算公式: $\text{TG 浓度} = [(\text{样本 OD 值} - \text{空白 OD 值}) / (\text{校准 OD 值} - \text{空白 OD 值})] \times \text{校准品浓度} (\text{mmol/L}) / \text{待测样}$

本蛋白浓度(g/L),检测细胞内 TG 含量。

1.2.4 油红 O 染色 细胞按照每孔 1.25×10^5 个/ml 密度培养于 6 孔板。弃细胞培养液,4% 多聚甲醛固定 50 min 后 PBS 漂洗,油红 O 染色 1 h,60% 异丙醇漂洗 10 s, PBS 漂洗,染色。显微镜下拍照。采用 ImageJ-ProPlus 6.0 图像分析软件,每组随机选取 3 个高倍视野,计算脂滴表达的红色积分光密度(OD)值。

1.2.5 Western blotting 细胞按照 7.5×10^5 个/ml 密度培养于直径 60 mm 培养皿。使用 RIPA 蛋白裂解液裂解细胞,按照 BCA 蛋白定量法计算并制备蛋白样品,向蛋白液中加入 $5 \times \text{SDS}$ 蛋白上样缓冲液,取 $10 \mu\text{l}$ 上样并使用 SDS-PAGE 分离后将蛋白电转至 PVDF 膜,用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭液封闭 1.5 h。TBST 洗膜后,加入稀释后的 I 抗[Plin5 为 1:4 000, GAPDH 为 1:2 000, PI3K 为 1:1 000, P-Akt 为 1:2 000]孵育,4℃过夜。次日用 TBST 洗净后加入辣根过氧化物酶标记的 II 抗,室温孵育 1 h。之后使用 ECL 工作液曝光。以 IMAGELAB 软件计算阴影值, Plin5、PI3K、P-Akt 与 GAPDH 表达量阴影面积的比值作为该蛋白的相对表达量。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 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,进一步的两两比较用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 蓝莓花青素对细胞增殖的影响

用不同浓度的蓝莓花青素培养基处理后, $0 \mu\text{g/ml}$ 组和 $50 \mu\text{g/ml}$ 组的细胞指数逐渐升高, $100 \mu\text{g/ml}$ 、 $150 \mu\text{g/ml}$ 组缓慢升高, $200 \mu\text{g/ml}$ 组缓慢升高后下降。 $0 \mu\text{g/ml}$ 组、 $50 \mu\text{g/ml}$ 组、 $100 \mu\text{g/ml}$ 组、 $150 \mu\text{g/ml}$ 组、 $200 \mu\text{g/ml}$ 组细胞指数分别为 (2.49 ± 0.07) 、 (2.45 ± 0.06) 、 (2.14 ± 0.04) 、 (1.51 ± 0.060) 和 (1.42 ± 0.02) ,经方差分析,差异有统计学意义($F = 275.573$, $P = 0.000$), $100 \mu\text{g/ml}$ 、 $150 \mu\text{g/ml}$ 、 $200 \mu\text{g/ml}$ 组较 $0 \mu\text{g/ml}$ 组下降($P < 0.05$)。蓝莓花青素处理 24 h 后 $100 \mu\text{g/ml}$ 组抑制率为 14.18%;而 $50 \mu\text{g/ml}$ 组为 1.60%,未显示出明显抑制率。因此选择 $50 \mu\text{g/ml}$ 的蓝莓花青素作为后续实验的干预浓度。见图 1。

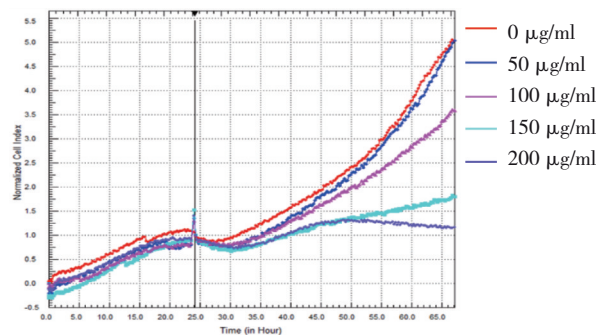


图 1 不同浓度蓝莓花青素处理 AML12 细胞的细胞指数变化趋势

2.2 各组 AML12 细胞 AST、ALT、TG 水平比较

各组 AML12 细胞 ALT、AST、TG 水平比较，经方差分析，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，油酸诱导组较对照组升高 ($P < 0.05$)，维生素 C 组、蓝莓花青素组较油酸诱导组降低 ($P < 0.05$)，蓝莓花青素组较维生素 C 组降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组 AML12 细胞 AST、ALT、TG 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ALT/(u/L)	AST/(u/L)	TG/(mmol/g)
对照组	2.32 ± 0.19	2.84 ± 0.76	0.09 ± 0.01
油酸诱导组	8.55 ± 0.24	8.34 ± 1.51	0.47 ± 0.01
维生素 C 组	4.94 ± 0.79	5.98 ± 0.35	0.38 ± 0.04
蓝莓花青素组	3.47 ± 0.74	4.86 ± 0.15	0.28 ± 0.06
F 值	68.682	21.037	54.350
P 值	0.000	0.000	0.000

2.3 脂滴染色结果

对照组细胞几乎没有被油红染料染成红色的脂滴。油酸诱导组细胞胞质内有大量被油红染料染成红色的脂滴，并散在分布于细胞核周围。维生素 C 组、蓝莓花青素组可见脂滴不同程度地减少。对照组、油酸诱导组、维生素 C 组、蓝莓花青素组的 IOD 值分别为 (0.04 ± 0.04)、(4.00 ± 0.20)、(2.63 ± 0.21)、(1.17 ± 0.15)，经方差分析，差异有统计学意义 ($F = 329.990$, $P = 0.000$)，油酸诱导组较对照组升高 ($P < 0.05$)，维生素 C 组、蓝莓花青素组较油酸诱导组降低 ($P < 0.05$)，蓝莓花青素组较维生素 C 组降低 ($P < 0.05$)。见图 2。

2.4 各组 Plin5、PI3K、P-Akt 蛋白相对表达量比较

各组 Plin5、PI3K、P-Akt 蛋白相对表达量比较，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。油酸诱导组较对

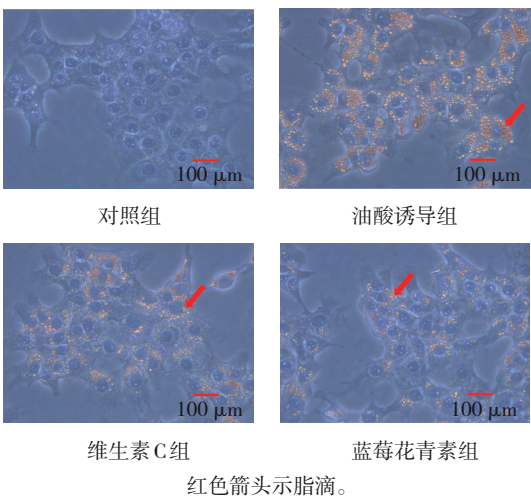


图 2 各组 AML12 细胞中脂滴分布 (油红 O 染色)

照组升高 ($P < 0.05$)，维生素 C 组、蓝莓花青素组较油酸诱导组降低 ($P < 0.05$)，蓝莓花青素组较维生素 C 组降低 ($P < 0.05$)。见图 3、4 和表 2。

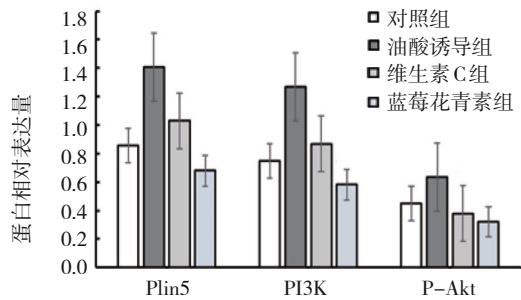
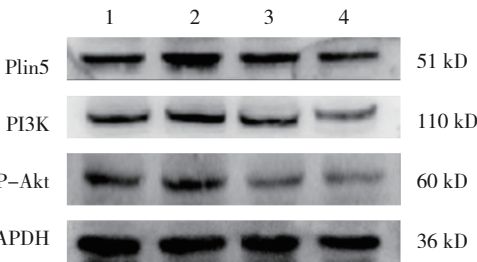


图 3 各组 AML12 细胞 Plin5、PI3K 和 P-Akt 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)



1: 对照组; 2: 油酸诱导组; 3: 维生素 C 组; 4: 蓝莓花青素组。

图 4 各组 AML12 细胞 Plin5、PI3K 和 P-Akt 蛋白的表达

3 讨论

肝脏作为调节体内脂质平衡的主要器官之一，其脂肪酸主要有两种代谢方式：一是线粒体 β 氧化；二是游离脂肪酸与甘油进行酯化形成 TG，储存在脂滴^[10]。当肝细胞摄入脂肪酸过量时， β 氧化途径受到抑制，脂质沉积加剧，导致脂肪变性^[11]。本实验采用较高浓度油酸诱导 AML12 细胞后，细

表 2 各组 AML12 细胞 Plin5、PI3K 和 P-Akt 蛋白
相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Plin5	PI3K	P-Akt
对照组	0.85 ± 0.08	0.75 ± 0.10	0.45 ± 0.13
油酸诱导组	1.41 ± 0.34	1.27 ± 0.20	0.63 ± 0.03
维生素 C 组	1.03 ± 0.08	0.87 ± 0.04	0.38 ± 0.07
蓝莓花青素组	0.68 ± 0.03	0.58 ± 0.07	0.32 ± 0.10
F 值	9.240	18.431	7.067
P 值	0.006	0.001	0.012

胞培养上清液中肝功能损伤指标 ALT 和 AST 水平、细胞内 TG 含量、脂滴数量均显著高于对照组；上述结果提示油酸诱导肝细胞发生明显脂肪变性及损伤，模型复制成功。根据文献报道，黄酮类化合物可以提高细胞抗氧化能力，减轻脂质过氧化损伤，并减少脂质沉积^[12]。蓝莓富含多种抗氧化活性物质如黄酮类、多酚类化合物，其中抗氧化主要活性物质——花青素，属黄酮类化合物，是一种水溶性天然色素^[8]，本实验采用具有抗氧化活性的水溶性维生素 C 作为阳性对照，经维生素 C 及蓝莓花青素处理后，维生素 C 组、蓝莓花青素组细胞培养上清液中 ALT、AST 水平以及细胞内 TG 含量、脂滴数量较油酸诱导组均降低。提示蓝莓花青素可有效降低肝细胞内脂滴沉积并改善肝细胞损伤，且与维生素 C 作用相似。

在肝细胞内脂质以脂滴的形式沉积，而脂滴周围覆盖有多种脂滴蛋白，其中 Perilipin 家族蛋白是研究比较广泛的一类脂滴蛋白^[13]。目前，Plin1、Plin4 主要表达于脂肪组织中，Plin2、Plin3 可见于许多细胞类型。而 Plin5 多表达于脂肪酸氧化代谢旺盛的组织，如心脏、肝脏、骨骼肌等。Plin5 作为新发现的成员，其亚细胞定位主要在脂滴表面^[14]。Plin5 能够通过抑制 TG 脂解和/或降低脂肪酸氧化，促进细胞内脂质的积累^[15]。本实验油酸诱导组 Plin5 蛋白表达较对照组显著增加，其表达和脂滴增加一致。LI 等^[16]发现经油酸刺激后 AML12 小鼠肝细胞中 Plin5 的表达呈浓度及时间依赖性升高，与其相似，提示油酸诱导 Plin5 蛋白表达促进脂质沉积。维生素 C、蓝莓花青素干预后，Plin5 蛋白表达水平相较于油酸诱导组均明显下降，提示维生素 C、蓝莓花青素能够抑制油酸诱导的 Plin5 蛋白表达，起到减少脂质沉积的作用。同时，研究发

现 Plin5 蛋白可通过 PI3K/Akt 途径促进细胞内脂质蓄积^[6]。ZHONG 等^[17]研究发现，下调 PI3K 可以降低油酸诱导的 HepG2 细胞中 Plin5 的表达及脂滴沉积。以上研究均提示，脂滴蛋白与 PI3K/Akt 信号通路的调控密切相关。

基于“脂质代谢异常加剧肝脏脂肪沉积，进一步发生氧化应激及脂质过氧化，最终导致 NAFLD 的发生”这一共识，PI3K/Akt 信号通路将有望成为改善 NAFLD 的靶点^[18]。近年来，关于 PI3K/Akt 在脂质代谢方面的研究不断增多，越来越多的学者认为 PI3K/Akt 信号通路能促进脂质合成并抑制脂肪分解，是调节脂质代谢的重要通路^[19]。此外，研究发现蓝莓花青素能够影响 PI3K/Akt 信号通路蛋白的表达^[20]。本研究中油酸诱导组 PI3K、P-Akt 蛋白表达相较于对照组显著增加，而维生素 C 组、蓝莓花青素组 Plin5、PI3K、P-Akt 蛋白表达较油酸诱导组降低，蓝莓花青素组及维生素 C 组下调结果一致。由此推测，蓝莓花青素可能通过调节 PI3K/Akt 信号通路影响 Plin5 蛋白的表达，从而调节细胞内脂滴的沉积，但 PI3K/Akt 信号通路是直接调控还是间接调控 Plin5 蛋白的表达仍需进一步研究。

综上所述，蓝莓花青素在一定程度上可以改善油酸诱导的小鼠肝细胞脂肪变性。在油酸诱导小鼠肝细胞发生脂肪变性时，蓝莓花青素可能通过抑制 Plin5 蛋白的表达减少肝脂肪变性。笔者推测其机制是通过蓝莓花青素抑制 PI3K/Akt 信号通路使 Plin5 蛋白表达下降，减弱 Plin5 蛋白促进细胞内脂质积累的功能，达到改善油酸诱导的小鼠肝细胞脂肪变性的目的。但是其详细作用机制，仍需进一步深入研究。

参 考 文 献：

- [1] COBBINA E, AKHLAGHI F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) -pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters[J]. Drug Metabolism Reviews, 2017, 49(2): 197-211.
- [2] MUSSO G, CASSADER M, GAMBINO R. Non-alcoholic steatohepatitis: emerging molecular targets and therapeutic strategies[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2016, 15(4): 249-274.
- [3] 詹玮. 蓝莓营养成分及其改善大鼠肝纤维化机制中组蛋白乙酰化修饰的研究[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2017.

- [4] REN T T, ZHU L L, SHEN Y Y, et al. Protection of hepatocyte mitochondrial function by blueberry juice and probiotics via sirt1 regulation in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Food & Function, 2019, 10(3): 1540-1551.
- [5] MASHEK D G. Hepatic lipid droplets: a balancing act between energy storage and metabolic dysfunction in NAFLD[J]. Molecular Metabolism, 2021, 50: 101115.
- [6] 刘清南, 戴志兵, 袁中华, 等. Adipophilin 通过 PI3K/Akt 通路促进细胞内脂质蓄积[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(7): 1189-1194.
- [7] 钟文霞. PYC 通过 PI3K/PPAR α 调控 HepG2 细胞内 Plin5 表达及脂质蓄积的机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2019.
- [8] SILVA S, COSTA E M, VEIGA M, et al. Health promoting properties of blueberries: a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(2): 181-200.
- [9] 董丽红, 张瑞芬, 黄菲, 等. 油酸诱导单纯性肝脂肪变性细胞模型的建立及应用[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(11): 1622-1626.
- [10] FRIEDMAN S L, NEUSCHWANDER-TETRI B A, RINELLA M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies[J]. Nature Medicine, 2018, 24(7): 908-922.
- [11] MANSOURI A, GATTOLLIAT C, ASSELAH T. Mitochondrial dysfunction and signaling in chronic liver diseases[J]. Gastroenterology, 2018, 155(3): 629-647.
- [12] YANG J, SHIN J, SEO S, et al. Effects of antioxidants in reducing accumulation of fat in hepatocyte[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(9): 2563.
- [13] KLOSKA A, WĘSIERSKA M, MALINOWSKA M, et al. Lipophagy and lipolysis status in lipid storage and lipid metabolism diseases[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(17): 6113.
- [14] SEIBERT J T, NAJT C P, HEDEN T D, et al. Muscle lipid droplets: cellular signaling to exercise physiology and beyond[J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2020, 31(12): 928-938.
- [15] HAFIDI M E, BUELNA-CHONTAL M, SÁNCHEZ-MUÑOZ F, et al. Adipogenesis: a necessary but harmful strategy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(15): 3657.
- [16] LI H, SONG Y, ZHANG L J, et al. LSDP5 enhances triglyceride storage in hepatocytes by influencing lipolysis and fatty acid beta-oxidation of lipid droplets[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e36712.
- [17] ZHONG W X, FAN B, CONG H Y, et al. Oleic acid-induced perilipin 5 expression and lipid droplets formation are regulated by the PI3K/PPAR α pathway in HepG2 cells[J]. Applied Physiology Nutrition and Metabolism, 2019, 44(8): 840-848.
- [18] DEWIDAR B, KAHL S, PAFILI K, et al. Metabolic liver disease in diabetes - from mechanisms to clinical trials[J]. Metabolism, 2020, 111S: 154299.
- [19] CAI J J, ZHANG X J, LI H L. Progress and challenges in the prevention and control of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Medicinal Research Reviews, 2019, 39(1): 328-348.
- [20] HUANG W, HUTABARAT R P, CHAI Z, et al. Antioxidant blueberry anthocyanins induce vasodilation via PI3K/Akt signaling pathway in high-glucose-induced human umbilical vein endothelial cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(5): 1575.

(李科 编辑)

本文引用格式: 李晨驰, 韩萧萧, 杨柳, 等. 蓝莓花青素对油酸诱导肝细胞脂肪变性小鼠 Plin5 蛋白表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(24): 7-12.

Cite this article as: LI C C, HAN X X, YANG L, et al. Effect of blueberry anthocyanin on the expression of Plin5 in mice with hepatocyte steatosis induced by oleic acid[J]. China Journal of Modern Medicine, 2021, 31(24): 7-12.