

滨蒿内酯对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用研究[△]

彭静^{1*}, 陈曦² (1. 乐山职业技术学院中医教研室, 四川乐山 614000; 2. 乐山市市中区人民医院中医科, 四川乐山 614000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)02-0231-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.02.18

摘要 目的: 研究滨蒿内酯对四氯化碳(CCl₄)致小鼠急性肝损伤的保护作用及潜在分子机制。方法: 将50只雄性昆明种小鼠随机分为正常对照组、模型组、水飞蓟素组(阳性对照, 120 mg/kg)和滨蒿内酯高、低剂量组(60、30 mg/kg), 每组10只。各给药组小鼠均灌胃相应药物, 正常对照组和模型组小鼠灌胃等体积0.5%羧甲基纤维素钠溶液, 每日1次, 连续给药7 d。末次给药结束2 h后, 除正常对照组小鼠腹腔注射等体积橄榄油外, 其余组小鼠均一次性腹腔注射0.1% CCl₄橄榄油溶液(1 mL/100 g)以建立急性肝损伤模型。采用苏木精-伊红(HE)染色法观察小鼠肝组织病理学改变; 采用酶联免疫吸附法检测小鼠血清中天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活性和白细胞介素1β(IL-1β)、IL-6、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、丙二醛(MDA)的含量; 采用蛋白免疫印迹法检测小鼠肝组织中核因子κB(NF-κB)通路相关蛋白[NF-κB p65、核因子κBα抑制蛋白(IκBα)]的磷酸化水平。结果: 与正常对照组比较, 模型组小鼠血清中AST、ALT活性和MDA、IL-1β、IL-6、TNF-α含量均显著升高, SOD、CAT活性均显著降低($P < 0.05$); 肝组织出现明显的病理学改变, 且肝组织中NF-κB p65和IκBα蛋白的磷酸化水平均显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较, 水飞蓟素组和滨蒿内酯高、低剂量组小鼠血清中相关因子活性或含量水平均显著逆转($P < 0.05$); 肝组织病理学改变程度明显减轻, 且肝组织中NF-κB p65和IκBα蛋白的磷酸化水平均显著降低($P < 0.05$)。结论: 滨蒿内酯对CCl₄所致小鼠急性肝损伤具有保护作用, 该作用与降低氧化应激水平以及阻断NF-κB通路的活化、进而抑制炎症反应有关。

关键词 滨蒿内酯; 急性肝损伤; NF-κB通路; 氧化应激; 炎症; 小鼠

Study on Protective Effects of Scoparone on Acute Liver Injury Induced by CCl₄ in Mice

PENG Jing¹, CHEN Xi² (1. Teaching and Research Section of Traditional Chinese Medicine, Leshan Vocational and Technical College, Sichuan Leshan 614000, China; 2. Dept. of Traditional Chinese Medicine, Leshan Shizhong District People's Hospital, Sichuan Leshan 614000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the protective effects of scoparone on acute liver injury induced by CCl₄ in mice and its potential molecular mechanism. **METHODS:** Fifty male Kunming mice were randomly divided into normal control group, model group, silymarin group (positive control, 120 mg/kg), scoparone high-dose and low-dose groups (60, 30 mg/kg), with 10 mice in each group. Administration groups were given relevant medicine intragastrically. Normal control group and model group were given constant volume of 0.5% sodium carboxymethyl cellulose solution, once a day, for 7 days. Two hours after last medication, except normal control group was intraperitoneally injected constant volume of olive oil, other groups were intraperitoneally injected 0.1% CCl₄ olive oil solution (10 mL/kg) at one time to establish the acute liver injury model. The pathological changes of liver tissues in mice were observed by HE staining; the activity of AST, ALT, SOD and CAT and the contents of IL-1β, IL-6, TNF-α and MDA in serum were measured by ELISA; the phosphorylation of nuclear factor κB (NF-κB) pathway related proteins (NF-κB p65, IκBα) in liver tissue were detected by Western blotting assay. **RESULTS:** Compared with normal control group, serum activities of AST and ALT, the contents of MDA, IL-1β, IL-6 and TNF-α were significantly increased in model group, the activities of SOD and CAT were decreased significantly ($P < 0.05$); obvious pathological changes were observed in liver tissues; phosphorylation levels of NF-κB p65 and IκBα protein in liver tissues were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with model group, the activities or contents of related factors in serum of mice were significantly reversed in silymarin group and scoparone high-dose and low-dose groups ($P < 0.05$); the pathological changes of liver tissues were significantly reduced; the phosphorylation levels of NF-κB p65 and IκBα protein in liver tissues were significantly reduced ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS:** Scoparone has a protective effect on CCl₄-induced acute liver injury in mice, which is related to reducing oxidative stress levels and blocking the activation of NF-κB pathway, thereby inhibiting inflammatory response.

KEYWORDS Scoparone; Acute liver injury; NF-κB pathway; Oxidative stress; Inflammation; Mice

△ 基金项目: 乐山市重点科技计划项目(No.19SZD207)

* 副教授, 硕士。研究方向: 中医药治疗慢性病。电话: 0833-2152787。E-mail: pengjingls@126.com

滨蒿内酯为传统中药滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.、茵陈蒿 *Artemisia capillaries* Thunb. 和石斛 *Dendrobium* Sw. 中的有效成分, 又名七叶内酯二甲

醚、6,7-二甲氧基香豆素、东喘宁、蒿属香豆精等,具有平喘止咳、抗辐射、抑制免疫、舒张血管、调血脂、消炎镇痛和降血压等功效,临床上主要用于支气管哮喘、心绞痛及冠心病等症的治疗^[1]。近年来,滨蒿内酯在非酒精性脂肪性肝病的治疗中表现出较好的效果,具有减轻肝组织脂肪性改变等作用,逐渐得到人们的重视^[2]。体外研究证实,滨蒿内酯能通过使转化生长因子 β (TGF- β)/Smad信号通路失活,进而抑制肝星状细胞的增殖,表明其具有潜在的治疗肝纤维化的作用^[3]。*D*-半乳糖胺(*D*-GalN)/脂多糖(LPS)诱导的肝损伤模型的病理改变与人类病毒性肝炎的病理改变较为接近,研究人员也发现,滨蒿内酯可以通过抑制 Toll 样受体 4(TLR-4)介导的炎症通路来减轻 *D*-GalN/LPS 诱导的小鼠肝损伤^[4]。四氯化碳(CCl_4)可破坏肝组织,导致脂质过氧化及炎症反应,是肝损伤研究中广泛使用的经典造模化合物;同时,核因子 κB (NF- κB)信号通路在 CCl_4 致小鼠急性肝损伤引起的炎症反应中发挥了重要作用^[5-9]。因此,本研究以 CCl_4 致急性肝损伤模型小鼠为研究对象,在进一步证实滨蒿内酯对模型小鼠肝损伤具有保护作用的基础上,着重探讨该作用与氧化应激、炎症反应及 NF- κB 通路的相关性,初步阐明滨蒿内酯的肝保护作用机制,为将其开发成为肝损伤防治药物奠定实验基础。

1 材料

1.1 仪器

实验使用的仪器有:ESJ200-4A型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司)、HC-2518RHC型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)、CX31型生物显微镜(日本 Olympus 公司)、L5型紫外-可见分光光度计(上海仪分科学仪器有限公司)、HBS-1096A型酶标分析仪(南京德铁实验设备有限公司)、LF-Mini4型垂直电泳槽、LF-ZY02型转印槽(北京龙方科技有限公司)、ChemiDoc XRS+型全自动凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司)等。

1.2 药品与试剂

滨蒿内酯对照品(批号 20180215,纯度 >95.0%)购自成都普利斯生物科技有限公司;水飞蓟素对照品(阳性对照,批号 0171204,纯度 >98.0%)购自盘锦格林恩生物资源开发有限公司;羧甲基纤维素钠(批号 s14016)购自上海源叶生物科技有限公司; CCl_4 (分析纯)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、白细胞介素 1β (IL- 1β)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒(批号分别为 180325、180124、180613、180417、180903、180419、180525、180716)均购自南京建成生物工程研究所;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(批号 PC0020)、二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量检测试剂盒(批号 G1120)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔 IgG 二抗(批号 PC8020)均购自北京索莱宝科技有限公司;小鼠 NF- κB p65、磷酸化 NF- κB p65(p-NF- κB p65)、核因

子 $\kappa\text{B}\alpha$ 激酶抑制蛋白(I $\kappa\text{B}\alpha$)、磷酸化 I $\kappa\text{B}\alpha$ (p-I $\kappa\text{B}\alpha$)单克隆抗体(批号分别为 sc-8008、sc-166748、sc-1643、sc-8404)均购自美国 Santa Cruz 公司;底物化学发光(ECL)试剂购自环亚生物科技有限公司;氯化钠注射液(国药准字 H20033128,规格 200 mL:1.8 g;作生理盐水处理)购自山东华鲁制药有限公司;其余试剂均为市售分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

实验所用动物为清洁级昆明种小鼠,雄性,体质量 20~22 g,购于北京华卓康生物科技股份有限公司,生产许可证号为 SCXK(京)2014-0004。

2 方法

2.1 分组与给药

将 50 只小鼠随机分为正常对照组、模型组、水飞蓟素组(120 mg/kg)和滨蒿内酯高、低剂量组(60、30 mg/kg),每组 10 只。其中,水飞蓟素给药剂量参考文献[7]设置,滨蒿内酯给药剂量参考文献[4]并结合本课题组前期预实验结果设置;药物均以 0.5%羧甲基纤维素钠溶液为溶剂配制成适宜浓度给药。各给药组小鼠均灌胃给药,灌胃体积为 2 mL/100 g,每日 1 次,连续给药 7 d;正常对照组和模型组小鼠同法灌胃等体积 0.5%羧甲基纤维素钠溶液。末次给药结束 2 h 后,模型组和各药物组小鼠均一次性腹腔注射 0.1% CCl_4 溶液(以市售橄榄油为溶剂稀释),注射体积为 1 mL/100 g;正常对照组小鼠腹腔注射等体积橄榄油。

2.2 血清中 AST、ALT 活性检测

小鼠腹腔注射 CCl_4 溶液或等体积橄榄油 18 h 后,摘眼球取血,血样以 3 000 r/min 离心 5 min,分离上层血清。将血清分装于 EP 管中,于 -20 °C 保存。检测前,取部分冻存血清,室温解冻后,采用 ELISA 法以酶标分析仪检测 AST、ALT 活性,操作步骤严格按照相应试剂盒说明书进行。

2.3 肝组织病理学检测

摘眼球取血结束后,颈椎脱臼处死小鼠并于无菌条件下分离其肝组织。取部分肝组织(其余部分冻存,备用),置于 4%福尔马林溶液固定 24 h,石蜡包埋,切片(8 μm),再经 HE 法染色后,置于生物显微镜下观察小鼠肝组织病理性改变情况。

2.4 血清中 SOD、CAT 活性及 MDA、IL- 1β 、IL-6、TNF- α 含量检测

取“2.2”项下冻存血清,室温解冻后,采用 ELISA 法以酶标分析仪检测小鼠血清中 SOD、CAT 活性以及 MDA、IL- 1β 、IL-6、TNF- α 含量,操作步骤严格按照相应试剂盒说明书进行。

2.5 肝组织中 NF- κB 通路相关蛋白表达的检测

采用蛋白免疫印迹法进行检测。取“2.3”项下冻存的剩余肝脏组织,室温解冻后,加入生理盐水制备 10%肝组织匀浆液,以 3 000 r/min 离心 5 min,取组织匀浆上清液。采用 BCA 蛋白定量检测试剂盒进行蛋白定量

后,进行加热变性处理。取变性蛋白适量,进行10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转膜,于4℃下用5%脱脂奶粉封闭2h;加入NF-κB p65、p-NF-κB p65、IκBα、p-IκBα一抗(稀释度1:1 000),于4℃下孵育过夜;用TBST缓冲液洗膜,加入二抗(稀释度1:2 000),室温孵育2h;用TBST缓冲液洗膜,采用ECL法曝光,在凝胶成像分析系统中进行成像、拍照。用Quantity One 4.6.6软件分析各目标蛋白条带的灰度值,分别计算p-NF-κB p65/NF-κB p65和p-IκBα/IκBα条带灰度值的比值,用以表示相应蛋白的磷酸化水平。

2.6 统计学方法

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 滨蒿内酯对急性肝损伤模型小鼠血清中AST、ALT活性的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠血清中AST、ALT活性均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,水飞蓟素组和滨蒿内酯高、低剂量组小鼠血清中AST、ALT活性均显著降低($P < 0.05$),详见表1。

表1 各组小鼠血清中AST、ALT活性比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Comparison of serum activities of AST and ALT in mice of each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,mg/kg	AST,U/L	ALT,U/L
正常对照组		66.53 ± 8.65	44.74 ± 6.39
模型组		114.67 ± 14.04*	125.11 ± 13.17*
水飞蓟素组	120	82.32 ± 11.54 [#]	87.59 ± 10.34 [#]
滨蒿内酯高剂量组	60	93.96 ± 10.83 [#]	95.47 ± 12.30 [#]
滨蒿内酯低剂量组	30	98.40 ± 12.72 [#]	102.62 ± 9.41 [#]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.05$; vs. model group, [#] $P < 0.05$

3.2 滨蒿内酯对急性肝损伤模型小鼠肝组织病理性改变的影响

镜下可见,正常对照组小鼠肝细胞形态正常,肝小叶结构清晰,肝细胞索规则排列,肝组织结构未见病理性改变;模型组小鼠肝组织中炎性细胞浸润明显,肝细胞索排列紊乱,肝小叶界限模糊,肝组织结构可见明显病理性改变;与模型组比较,水飞蓟素组和滨蒿内酯高、低剂量组小鼠肝组织病理性改变程度明显减轻,炎性细胞浸润减少,肝细胞形态及肝小叶结构基本正常,结果详见图1(图中箭头所指为炎性反应点)。

3.3 滨蒿内酯对急性肝损伤模型小鼠血清中SOD、CAT活性及MDA含量的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠血清中SOD、CAT活性均显著降低,MDA含量显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,水飞蓟素组和滨蒿内酯高、低剂量组小鼠血清中SOD、CAT活性均显著升高,MDA含量均显著降低

($P < 0.05$),详见表2。

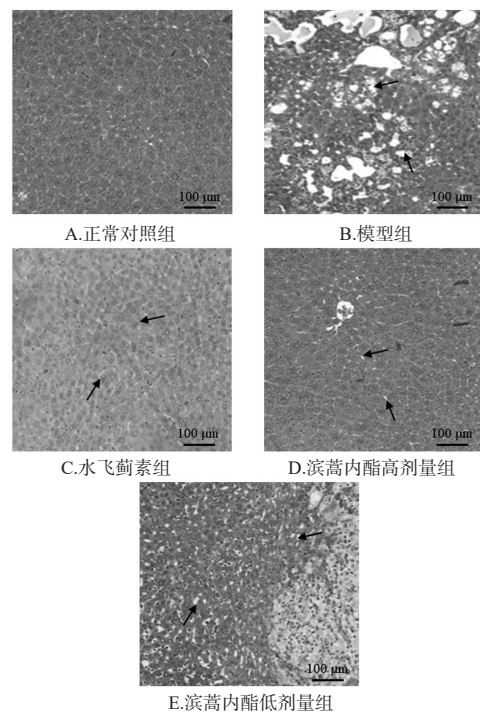


图1 各组小鼠肝组织病理性改变的显微图(HE染色,×100)

Fig 1 Micrographs of pathological changes in liver tissue of mice in each group (HE staining, ×100)

表2 各组小鼠血清中SOD、CAT活性和MDA含量比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Comparison of SOD and CAT activities and MDA contents in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,mg/kg	SOD,U/L	CAT,U/L	MDA,nmol/L
正常对照组		19.45 ± 2.56	35.09 ± 5.12	12.69 ± 1.73
模型组		9.76 ± 1.15*	14.51 ± 2.44*	40.51 ± 6.12*
水飞蓟素组	120	17.93 ± 2.77 [#]	30.18 ± 4.52 [#]	15.29 ± 2.63 [#]
滨蒿内酯高剂量组	60	14.01 ± 1.39 [#]	26.89 ± 3.83 [#]	19.62 ± 3.85 [#]
滨蒿内酯低剂量组	30	13.28 ± 2.03 [#]	22.43 ± 3.18 [#]	24.16 ± 2.70 [#]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.05$; vs. model group, [#] $P < 0.05$

3.4 滨蒿内酯对急性肝损伤模型小鼠血清中IL-1β、IL-6、TNF-α含量的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠血清IL-1β、IL-6、TNF-α含量均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,水飞蓟素组和滨蒿内酯高、低剂量组小鼠血清中IL-1β、IL-6、TNF-α含量均显著降低($P < 0.05$),详见表3。

3.5 滨蒿内酯对急性肝损伤模型小鼠肝组织中NF-κB通路相关蛋白表达的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠肝组织中NF-κB p65和IκBα蛋白的磷酸化水平均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,水飞蓟素组及滨蒿内酯高、低剂量组小鼠肝组织中NF-κB p65和IκBα蛋白的磷酸化水平均显著

降低($P < 0.05$), 详见表4、图2。

表3 各组小鼠血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 3 Comparison of serum contents of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in mice of each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量, mg/kg	IL-1 β , ng/L	IL-6, ng/L	TNF- α , ng/L
正常对照组		21.44 \pm 3.80	22.87 \pm 2.64	47.50 \pm 6.87
模型组		47.64 \pm 6.71*	69.58 \pm 8.32*	115.32 \pm 15.36*
水飞蓟素组	120	26.72 \pm 4.19 [#]	38.62 \pm 5.41 [#]	62.18 \pm 7.08 [#]
滨蒿内酯高剂量组	60	30.02 \pm 5.33 [#]	46.95 \pm 6.38 [#]	71.68 \pm 9.13 [#]
滨蒿内酯低剂量组	30	34.57 \pm 4.92 [#]	55.16 \pm 7.64 [#]	83.29 \pm 8.25 [#]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.05$; vs. model group, [#] $P < 0.05$

表4 各组小鼠肝组织中NF- κ B通路相关蛋白表达情况比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 4 Comparison of protein expression of NF- κ B pathway-related protein in liver tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量, mg/kg	p-NF- κ B p65/NF- κ B p65	p-I κ B α /I κ B α
正常对照组		0.08 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01
模型组		1.62 \pm 0.20*	1.38 \pm 0.16*
水飞蓟素组	120	0.87 \pm 0.15 [#]	0.46 \pm 0.08 [#]
滨蒿内酯高剂量组	60	1.14 \pm 0.13 [#]	0.51 \pm 0.06 [#]
滨蒿内酯低剂量组	30	1.35 \pm 0.17 [#]	0.63 \pm 0.07 [#]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.05$; vs. model group, [#] $P < 0.05$

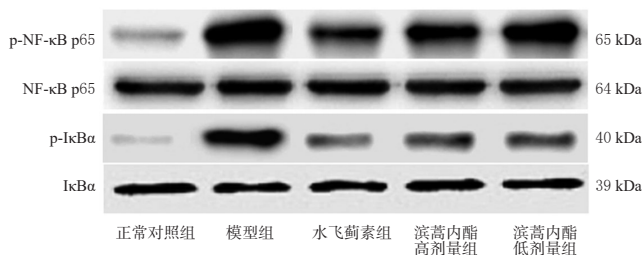


图2 各组小鼠肝组织中NF- κ B通路相关蛋白表达的电泳图

Fig 2 Electrophoretic map of NF- κ B pathway-related protein expression in liver tissue of mice in each group

4 讨论

肝脏是人体能量供应与转换、物质代谢的枢纽器官,肝损伤疾病严重影响着人们的身体健康和生活质量。研究指出,引起肝损伤的原因有多种,如病毒性肝损伤、酒精性肝损伤、免疫性肝损伤和化学性肝损伤等,其中化学性肝损伤的主要病理改变包括肝纤维化、脂肪变性及肝硬化等^[8]。中药具有历史悠久、资源丰富、疗效确切的优点,近年来采用中药治疗肝损伤逐渐成为相关治疗领域的研究热点^[9]。CCl₄致小鼠急性肝损伤是一种经典的肝损伤模型,其操作简单、重现性好、应用广

泛^[10]。血清AST和ALT是反映肝功能的重要指标,当肝功能发生异常时,二者水平急剧升高^[11]。本研究通过给予不同剂量的滨蒿内酯预处理小鼠后,再采用腹腔注射CCl₄溶液的方式建立小鼠急性肝损伤模型,结果显示,与正常对照组比较,模型组小鼠血清中AST、ALT活性均显著升高,肝组织出现了明显的病理性改变,表明模型组建立成功;与模型组比较,水飞蓟素组和滨蒿内酯高、低剂量组小鼠血清中AST、ALT活性均显著降低,肝组织病理性改变程度明显减轻,表明滨蒿内酯对CCl₄所致小鼠急性肝损伤具有一定的保护作用。

氧化应激以机体内抗氧化和氧化作用失去平衡为主要特征,会生成大量的氧化中间产物,引起蛋白酶分泌增加、中性粒细胞浸润等,是导致衰老和疾病的重要因素^[12]。在CCl₄致急性肝损伤模型小鼠体内,其血清中抗氧化酶SOD、CAT活性均显著降低,而氧化应激终产物MDA含量显著升高,表明CCl₄可以引起肝组织脂质过氧化物的发生^[13]。研究发现,青藤碱可以通过缓解氧化应激水平来发挥对CCl₄致急性肝损伤模型小鼠的保护作用^[14];草苈蓉水萃取物也可以通过升高SOD、CAT、谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽的活性,降低肝匀浆MDA含量,从而缓解CCl₄诱导的小鼠急性肝损伤^[15]。本研究也同样发现,与正常对照组比较,模型组小鼠血清中SOD、CAT活性均显著降低,MDA含量显著升高;与模型组比较,水飞蓟素组和滨蒿内酯高、低剂量组小鼠血清中SOD、CAT活性均显著升高,MDA含量均显著降低,提示滨蒿内酯对CCl₄所致小鼠急性肝损伤的保护作用可能与降低氧化应激水平有关。

炎症反应在CCl₄致小鼠急性肝损伤中发挥着重要作用,其中IL-1 β 、IL-6和TNF- α 是主要的促炎因子^[16]。IL-1 β 的生物学作用广泛,可激活补体并介导Ig的分泌,也可以吞噬和杀伤细胞,加重由体液免疫和细胞免疫所导致的组织损伤^[17]。IL-6一方面可以通过旁路或经典途径使补体激活,引发炎症和肝细胞的损伤;另一方面,也可以通过增强细胞毒性T细胞杀伤肝细胞的能力,加重肝脏的病理性损伤和炎症^[18]。TNF- α 可以由肝枯否细胞表达和分泌,可以直接杀伤肝细胞^[19]。姚红月等^[20]研究发现,CCl₄致急性肝损伤大鼠血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量均显著升高,而人参二醇组皂苷可以通过降低上述指标水平从而发挥肝保护作用。本研究也同样发现,与正常对照组比较,模型组小鼠血清IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量均显著升高;与模型组比较,水飞蓟素组和滨蒿内酯高、低剂量组小鼠血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量均显著降低,表明滨蒿内酯对CCl₄所致小鼠急性肝损伤的保护作用可能与抑制炎症反应有关。

研究表明,NF- κ B通路参与了炎症反应的发生与进展^[21]。在正常生理条件下,NF- κ B蛋白与I κ B蛋白以无活性复合物的形式存在于细胞质中;而当机体受到刺激时,NF- κ B蛋白被磷酸化后转入细胞核,进而促进I κ B蛋白的磷酸化,启动多种靶基因转录,分泌并释放IL-1 β 、

IL-6、TNF- α 等多种促炎因子,使炎症过程持续和放大^[22]。研究证实,抑制NF- κ B p65和I κ B α 蛋白磷酸化水平的增加,进而阻断NF- κ B通路的活化,对预防和治疗CCl₄致小鼠急性肝损伤具有重要意义^[23-25]。为了探索滨蒿内酯抑制CCl₄致小鼠急性肝损伤的炎症相关机制,本研究采用蛋白免疫印迹法检测了小鼠肝组织中NF- κ B p65和I κ B α 蛋白的磷酸化水平。结果发现,与正常对照组比较,模型组小鼠肝组织中NF- κ B p65和I κ B α 蛋白的磷酸化水平均显著升高;与模型组比较,水飞蓟素组和滨蒿内酯高、低剂量组小鼠肝组织中NF- κ B p65和I κ B α 蛋白的磷酸化水平均显著降低。以上结果进一步证实,滨蒿内酯可阻断NF- κ B通路的活化、进而抑制炎症反应,是其发挥肝损伤保护作用的潜在机制之一。

综上所述,滨蒿内酯对CCl₄致小鼠急性肝损伤具有明显的保护作用,该作用与降低氧化应激水平以及阻断NF- κ B通路的活化、进而抑制炎症反应有关。

参考文献

- [1] 杨燕,王庆伟,张琰.滨蒿内酯的研究进展[J].中国药业,2011,20(19):1-3.
- [2] 周岐鸣,徐姣雅,季光,等.滨蒿内酯治疗非酒精性脂肪性肝病的作用及机制研究进展[J].中西医结合肝病杂志,2019,29(2):188-190.
- [3] LIU X, ZHAO X. Scoparone attenuates hepatic stellate cell activation through inhibiting TGF- β /Smad signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 93(6):57-61.
- [4] KANG JW, KIM DW, CHOI JS, et al. Scoparone attenuates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure through inhibition of Toll-like receptor 4 signaling in mice[J]. Food Chem Toxicol, 2013, 57(7):132-139.
- [5] 郝二伟,李扬,赵媛媛,等.甘蔗叶乙醇提取物的不同溶剂萃取部位对CCl₄致小鼠急性肝损伤的保护作用研究[J].中国药房,2019,30(1):84-88.
- [6] 李梓萌,张可锋,朱依淳,等.复方叶下珠汤对四氯化碳致急性肝损伤大鼠的保护作用及机制研究[J].中药药理与临床,2020,36(1):158-163.
- [7] 庞小华,韦日明,林世源,等.复方狗肝菜汤对四氯化碳致急性肝损伤大鼠的保护作用及机制[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(12):58-63.
- [8] MCGILL MR, JAESCHKE H. Biomarkers of drug-induced liver injury: progress and utility in research, medicine, and regulation[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2018, 18(9):797-807.
- [9] ZHANG HY, WANG HL, ZHONG GY, et al. Molecular mechanism and research progress on pharmacology of traditional Chinese medicine in liver injury[J]. Pharm Biol, 2018, 56(1):594-611.
- [10] 岳淑雯,陈真.急性肝损伤模型及信号通路研究进展[J].药学研究,2019,38(1):49-52.
- [11] 史会连,方南元,陈沁磊,等.化滞柔肝颗粒治疗高脂非酒精性脂肪肝模型鼠的疗效观察[J].世界中医药,2020,15(22):3396-3400,3405.
- [12] ZHOU Y, PENG C, ZHOU Z, et al. Ketoconazole pretreatment ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats by suppressing inflammation and oxidative stress[J]. J Toxicol Sci, 2019, 44(6):405-414.
- [13] 王诗洋,王泉,徐祖清,等.苦杏仁苷通过抑制氧化应激及炎症反应减轻四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化作用[J].现代免疫学,2020,40(6):471-475,481.
- [14] 郭华,裴高油,李龙腾,等.青藤碱缓解氧化应激和炎症反应对四氯化碳诱导的急性肝损伤小鼠的保护作用[J].中国免疫学杂志,2019,35(8):939-943.
- [15] 赵文玺,金梅花,李天,等.草苈蓉水萃取物对四氯化碳致肝损伤小鼠肝脏氧化应激的干预作用[J].中国中药杂志,2013,38(6):875-878.
- [16] 聂星,黄道超,钟海英,等.肌肽对小鼠化学性肝损伤氧化应激和炎症因子的影响[J].免疫学杂志,2018,34(12):1059-1064.
- [17] KIM JW, ROH YS, JEONG H, et al. Spliceosome-associated protein 130 exacerbates alcohol-induced liver injury by inducing NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β in mice[J]. Am J Pathol, 2018, 188(4):967-980.
- [18] FANG ZZ, TANAKA N, LU D, et al. Role of the lipid-regulated NF- κ B/IL-6/STAT3 axis in alpha-naphthylisothiocyanate-induced liver injury[J]. Arch Toxicol, 2017, 91(5):2235-2244.
- [19] LIU J, ZHANG S, CAO H, et al. Deficiency of p38 α in macrophage ameliorates D-galactosamine/TNF- α -induced acute liver injury in mice[J]. FEBS J, 2017, 284(24):4200-4215.
- [20] 姚红月,刘新宇,刘婉珠.人参二醇组皂苷对四氯化碳所致大鼠急性肝损伤的保护作用及其机制[J].吉林大学学报(医学版),2019,45(3):479-483.
- [21] AHMAD R, KOCHUMON S, CHANDY B, et al. TNF- α drives the CCl₄ expression in human monocytic cells: involvement of the SAPK/JNK and NF- κ B signaling pathways[J]. Cell Physiol Biochem, 2019, 52(4):908-921.
- [22] 徐立新,严丽军.白桦脂酸对CCl₄诱导小鼠急性肝损伤的保护作用及机制研究[J].南京中医药大学学报,2017,33(6):618-622.
- [23] ZHANG M, HU X, LI S, et al. Hepatoprotective effects of ethyl pyruvate against CCl₄-induced hepatic fibrosis via inhibition of TLR4/NF- κ B signaling and up-regulation of MMPs/TIMPs ratio[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2018, 42(1):72-81.
- [24] 张帆,任真,高雅,等.基于TLR-4/NF- κ B信号通路研究老鹳草素对四氯化碳致肝损伤小鼠的保肝作用[J].中药材,2018,41(12):2906-2910.
- [25] 王肖辉,周霖,杜秋争,等.五味子甲素对四氯化碳诱导小鼠肝纤维化的保护作用及其机制研究[J].中国药房,2020,31(22):2725-2730.

(收稿日期:2020-07-02 修回日期:2020-12-19)

(编辑:段思怡)