

23-乙酰泽泻醇B对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及机制[△]

魏小果^{1*},慕淑丽²,杨帆¹,李海娥¹,罗舒丹¹,车晓娜²(1. 甘肃省人民医院消化科,兰州 730000;2. 甘肃中医药大学第一临床医学院,兰州 730000)

中图分类号 R965;R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)06-0752-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.06.10



摘要 **目的** 探讨23-乙酰泽泻醇B对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及潜在机制。**方法** 将50只雄性昆明小鼠分为空白组、模型组和23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组(10、20、40 mg/kg),每组10只。各组小鼠灌胃相应药液或生理盐水,每天1次,持续2周。于实验第15天,空白组小鼠灌胃生理盐水,其余4组小鼠灌胃12 mL/kg的白酒,共2次(间隔6 h)以建立急性酒精性肝损伤小鼠模型。实验期间,监测小鼠体重;于实验第16天,计算各组小鼠肝脏指数,检测其血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)水平,观察其肝组织病理形态并进行评分,检测肝组织中细胞色素P450 2E1(CYP2E1)、Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Keap1)、核转录因子红系2相关因子2(Nrf2)、NAD(P)H: 醌氧化还原酶1(NQO1)蛋白的表达水平。**结果** 与模型组比较,23-乙酰泽泻醇B各剂量组小鼠体重均有不同程度恢复;肝组织炎症细胞浸润、脂肪空泡等病理改变均有不同程度改善;其肝脏指数,肝组织病理形态评分,血清ALT、AST、TC、TG、MDA水平,以及肝组织中CYP2E1、Keap1蛋白的表达水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);血清GSH水平及肝组织中Nrf2(23-乙酰泽泻醇B低剂量组除外)、NQO1蛋白的表达水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且上述定量指标的变化呈剂量依赖趋势。**结论** 23-乙酰泽泻醇B能改善酒精急性暴露所引发的小鼠肝损伤,其机制可能与调控Keap1/Nrf2/NQO1信号通路以发挥抗氧化应激作用,同时改善肝脏脂质代谢有关。

关键词 23-乙酰泽泻醇B;急性酒精性肝损伤;抗氧化;脂质代谢;Keap1/Nrf2/NQO1信号通路

Protective effects and mechanism of alisol B 23-acetate on acute alcoholic liver injury in mice

WEI Xiaoguo¹, MU Shuli², YANG Fan¹, LI Hai'e¹, LUO Shudan¹, CHE Xiaona² (1. Dept. of Gastroenterology, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, China; 2. First School of Clinical Medicine, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the protective effects and potential mechanism of alisol B 23-acetate on acute alcoholic liver injury in mice. **METHODS** Fifty male Kunming mice were divided into the blank group, model group, and alisol B 23-acetate low-, medium- and high-dose groups (10, 20, 40 mg/kg), with 10 mice in each group. Each group was given relevant drug solution or normal saline intragastrically, once a day, for 2 consecutive weeks. On the 15th day, mice in the blank group were given normal saline intragastrically, while the other four groups were given 12 mL/kg white wine intragastrically, twice at six-hour intervals, to establish an acute alcoholic liver injury model. On the 16th day of the experiment, the liver indexes of mice in each group were calculated; the serum levels of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) were also determined. The histopathological morphology of their liver tissues was observed and scored. The protein expressions of cytochrome P450 2E1 (CYP2E1), Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1), nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) were measured in liver tissue. **RESULTS** Compared with model group, mice in each dosage group of alisol B 23-acetate showed varying degrees of recovery in body weight, along with improvements in pathological changes in liver tissues such as inflammatory cell infiltration and fatty vacuoles. Their liver indexes, histopathological scores of liver tissue, serum levels of ALT, AST, TC, TG and MDA, as well as the protein expressions of CYP2E1 and Keap1 in liver tissue, were all significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). The serum GSH levels and the protein expressions of Nrf2 (except for the alisol B 23-acetate low-dose group) and NQO1 in liver tissue were significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the changes in the above quantitative indicators showed a dose-dependent pattern.

[△]基金项目 甘肃省科技计划项目(No.25JRRA1211)

* 第一作者 主任医师。研究方向: 胃肠疾病的诊治。E-mail:

zph20222023@163.com

CONCLUSIONS Alisol B 23-acetate can ameliorate acute alcoholic liver injury in mice, and its mechanism may be related to improving antioxidant capacity by regulating the Keap1/Nrf2/NQO1 signaling pathway while simultaneously improving liver lipid metabolism-related indexes.

KEYWORDS alisol B 23-acetate; acute alcoholic liver injury; antioxidant; lipid metabolism; Keap1/Nrf2/NQO1 signaling pathway

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是目前全球肝硬化及肝脏相关死亡的主要原因之一,占全球肝硬化死亡病例的48%,严重威胁着人们的身体健康^[1-2]。在ALD疾病初始阶段,患者通常表现为脂肪肝,随后可能会进展为酒精性肝炎、肝纤维化,直至发展为肝硬化。ALD的发病机制较为复杂,目前认为乙醇及其代谢产物的直接毒性、氧化应激、脂质代谢紊乱以及炎症反应是其发病的核心环节^[3]。乙醇在肝脏中经乙醇脱氢酶及细胞色素P450 2E1(cytochrome P450 2E1, CYP2E1)代谢,过量摄入乙醇可诱导CYP2E1异常高表达,致使活性氧大量生成、乙醛蓄积,诱发氧化应激及脂质过氧化,进而干扰脂肪酸 β 氧化、促进脂肪合成,最终造成肝脏脂质沉积^[4]。现临床用于治疗ALD的药物主要包括糖皮质激素等,但长期使用存在不良反应发生率高、疗效个体差异大等问题,故迫切需要寻找安全、有效的干预策略^[5]。

天然产物凭借多靶点、低毒性等优势,在肝保护研究领域备受学者广泛关注。泽泻是泽泻科植物东方泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. 或泽泻 *Alisma plantago-aquatica* Linn. 的干燥块茎,其活性三萜类成分23-乙酰泽泻醇B具有利尿、降脂、抗氧化、抗肿瘤等多种药理活性,能通过调节脂代谢相关信号通路来改善高脂饮食所诱导的非酒精性脂肪性肝病^[6]。Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)/核转录因子红系2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)/NAD(P)H:醌氧化还原酶1[NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, NQO1]信号通路是机体抗氧化防御系统的核心调控通路,直接决定活性氧的清除能力;而肝脏脂质代谢信号通路则主导脂肪酸合成与氧化平衡,是酒精性肝损伤形成的直接决定因素^[7]。研究证实,活化的Nrf2不仅能够诱导抗氧化酶的表达,而且能通过抑制甾醇调控元件结合蛋白1c等生脂转录因子,直接下调脂质合成基因的表达,这为从上游信号转导至下游代谢表型调控的机制研究提供了理论依据^[8]。基于此,本研究拟探究23-乙酰泽泻醇B对急性酒精暴露致小鼠肝损伤的保护作用,并基于Keap1/Nrf2/NQO1信号通路和肝脏脂质代谢信号通路深入探讨其潜在作用机制,以期23-乙酰泽泻醇B用于临床治疗急

性酒精性肝损伤提供参考依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括CX31型生物显微镜(日本Olympus公司)、SpectraMax M2型多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司)、Tanon 5200型全自动化学发光成像分析系统(上海天能生命科学有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

23-乙酰泽泻醇B原料药(纯度 $\geq 98\%$,货号HZ-AB2301)购自上海沪峥生物科技有限公司;56度白酒购自北京红星股份有限公司;丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)检测试剂盒(批号分别为BC1555、BC1560、BC1980、BC1990)均购自北京索莱宝科技有限公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒(硫代巴比妥酸法)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)检测试剂盒(微板法)(批号分别为A003-1-2、A005-1-2)均购自南京建成生物工程研究所;兔抗Keap1、Nrf2、NQO1抗体(批号分别为HA7203、HA7210、HA7355)均购自杭州华安生物技术有限公司;兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、CYP2E1抗体和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G二抗(批号分别为SY0012、SY0019、SY0025)均购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 实验动物

50只雄性昆明小鼠[SPF级,动物生产许可证号为SCXK(京)2019-0010],购自斯贝福(北京)生物技术有限公司。所有小鼠均饲养于兰州大学实验动物中心SPF级动物房(每12h光/暗循环,温度22~26℃,相对湿度40%~60%)。本研究方案已通过兰州大学实验动物中心伦理委员会批准(批准编号MESI20250025)。

2 方法

2.1 建模、分组与给药

将50只小鼠适应性喂养1周后,分为空白组、模型组和23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组,每组10只。自实验第1天开始,23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组小鼠每天分别灌胃10、20、40 mg/kg的23-乙酰泽泻醇B溶

液^[9],空白组和模型组小鼠灌胃等体积生理盐水,每天1次,持续2周。于实验第15天,除空白组外,其余4组小鼠灌胃12 mL/kg的白酒,共2次(间隔6 h)以建立急性酒精性肝损伤小鼠模型(若后续肝组织病理学检查可见明显的肝脂肪变性和炎症细胞浸润,表明模型复制成功^[9])。

2.2 小鼠体重和肝脏指数的测定

实验期间,每3天定时测量各组小鼠体重。于实验第16天,所有小鼠以1%戊巴比妥钠麻醉,于眼内眦取血,血样经离心后取上层血清,分装,于-80℃下保存,备用。取血后,处死各组小鼠并剖取肝脏,经磷酸盐缓冲液清理血渍、滤纸吸干水分后,称取其肝脏质量,并按下式计算肝脏指数:肝脏指数(%)=肝脏质量/小鼠体重×100%。随后,收集各组小鼠肝组织,用于后续检测。

2.3 小鼠血清肝功能、脂质代谢及氧化应激指标检测

取“2.2”项下各组小鼠冻存的血清样品,经解冻后,按相应试剂盒说明书操作,使用多功能酶标仪检测各组小鼠血清肝功能指标(ALT、AST)、脂质代谢指标(TC、TG)和氧化应激指标(MDA、GSH)水平。

2.4 小鼠肝组织病理形态观察及评分

采用苏木精-伊红(HE)染色法观察。随机选择“2.2”项下各组3只小鼠的肝组织适量,于4%多聚甲醛溶液中固定,再经50%、75%、90%乙醇梯度脱水,二甲苯透明,浸蜡,包埋后切片。取切片适量,依次以苏木精、伊红染液染色,经清洗后以中性树脂封片,使用显微镜观察肝组织的病理改变。同时,参考Zhou等^[10]的标准,随机挑选4个视野,对肝组织病理形态进行评分,具体标准为——0分:无明显病理改变;1分:轻度病变(病变范围<25%);2分:中度病变(病变范围25%~50%);3分:重度病变(病变范围>50%)。

2.5 小鼠肝组织中CYP2E1蛋白表达的检测

采用免疫组化法检测。取“2.4”项下各组小鼠的肝组织切片,用二甲苯脱蜡后,以枸橼酸盐缓冲液进行抗原修复10 min;以生理盐水冲洗,再用3% H_2O_2 在室温下孵育10 min以封闭内源性过氧化物酶;随后,加入CYP2E1一抗(稀释比例为1:1 000)、GAPDH一抗(稀释比例为1:400),于4℃下孵育过夜;用磷酸盐缓冲液清洗3次,加入相应二抗(稀释比例为1:500),于室温下孵育1 h;以3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色后,再用苏木精复染,以树脂封片后,使用显微镜观察肝组织中CYP2E1蛋白的表达情况。采用Image J软件,以CYP2E1阳性表达区域(呈棕黄色或褐色)占组织总面积的百分比来表示该蛋白的表达水平。

2.6 小鼠肝脏组织中Keap1/Nrf2/NQO1信号通路相关蛋白表达的检测

采用Western blot法检测。另取“2.2”项下各组小鼠肝组织,经冻存、解冻后,加入RIPA组织裂解液适量,于4℃下以10 000 r/min离心5 min,取上清液,采用BCA法对蛋白进行定量。取所得蛋白,在金属浴中加热变性。取变性蛋白适量,经十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转移到聚偏二氟乙烯膜上,以快速封闭液封闭10 min;洗膜3次,加入Keap1、Nrf2、NQO1、GAPDH一抗(稀释比例分别为1:500、1:1 000、1:1 000、1:2 000),于4℃下孵育12 h;洗膜后,加入相应二抗(稀释比例为1:25 000),于37℃下孵育30 min;显影、成像后,采用Image J软件进行分析,以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度比值表示目的蛋白的表达水平。

2.7 统计学方法

采用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析,采用Origin 8.0软件绘图。计量资料满足正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 小鼠体重和肝脏指数测定结果

各组小鼠体重变化折线图(图1)显示,空白组小鼠实验期间体重呈增长趋势;其余各组小鼠体重则呈先上升后降低的趋势;经23-乙酰泽泻醇B干预后,各药物组小鼠体重均较模型组有不同程度恢复。

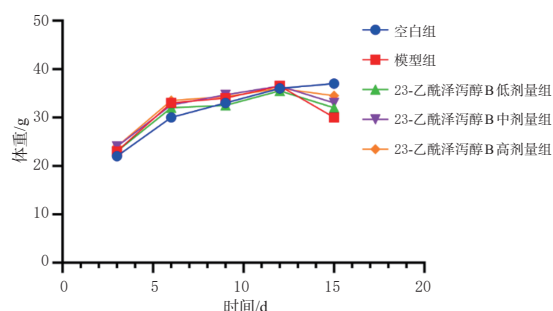


图1 各组小鼠体重变化折线图

空白组、模型组和23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组小鼠的肝脏指数分别为(4.12±0.44)%、(7.25±0.54)%、(5.73±0.31)%、(5.61±0.26)%、(5.23±0.18)%。与空白组比较,模型组小鼠的肝脏指数显著升高($P<0.01$);与模型组比较,23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组小鼠的肝脏指数均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且呈剂量依赖趋势。

3.2 小鼠血清肝功能、脂质代谢、氧化应激指标检测结果

与空白组比较,模型组小鼠血清中ALT、AST、TC、TG、MDA水平均显著升高,GSH水平显著降低($P<$

0.01);与模型组比较,23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组小鼠血清中ALT、AST、TC、TG、MDA水平均显著降低,GSH水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且呈剂量依赖趋势。结果见表1。

表1 各组小鼠血清肝功能、脂质代谢、氧化应激指标水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	ALT/ (U/L)	AST/ (U/L)	TC/ (mmol/L)	TG/ (mmol/L)	MDA/ (nmol/mg prot)	GSH/ (mg/mg prot)
空白组	23.12±1.14	38.21±2.34	6.93±0.54	4.32±0.34	4.92±0.74	5.89±0.31
模型组	75.23±4.32 ^a	78.91±5.25 ^a	14.34±1.14 ^a	12.16±0.48 ^a	13.56±1.15 ^a	1.91±0.86 ^c
23-乙酰泽泻醇B低剂量组	56.23±2.92 ^b	60.23±5.67 ^b	10.92±1.27 ^b	8.94±0.62 ^b	12.41±0.89 ^b	3.23±0.41 ^b
23-乙酰泽泻醇B中剂量组	50.23±1.32 ^c	50.12±2.73 ^c	8.73±0.66 ^c	6.55±0.66 ^c	10.43±0.43 ^c	3.88±0.31 ^c
23-乙酰泽泻醇B高剂量组	35.74±2.52 ^c	38.91±6.79 ^c	7.36±0.26 ^c	6.41±0.41 ^c	7.12±1.49 ^c	4.25±0.65 ^c

a:与空白组比较, $P<0.01$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与模型组比较, $P<0.01$ 。

3.3 小鼠肝组织病理形态观察与评分结果

小鼠肝脏HE染色结果(图2)与肝脏病理形态评分结果显示,与空白组(0分)比较,模型组小鼠肝组织可见大量炎症细胞浸润,肝索结构排列紊乱,肝小叶受损严重,并伴有较多的脂肪空泡和脂滴;其肝脏病理形态评分[(14.56±2.41)分, $P<0.01$]显著升高。与模型组比较,23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组小鼠的肝组织逐渐恢复正常,其中23-乙酰泽泻醇B低剂量组小鼠肝组织中仍可见炎症细胞浸润和脂肪空泡,而23-乙酰泽泻醇B中、高剂量组小鼠肝组织中炎症细胞大量减少,细胞排列也较为规则;其肝脏病理形态评分[分别为(8.23±0.61)、(6.71±0.96)、(3.41±0.41)分, $P<0.01$]均显著降低,且呈剂量依赖趋势。

3.4 小鼠肝组织中CYP2E1蛋白表达检测结果

空白组、模型组和23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组小鼠肝脏组织中CYP2E1蛋白的表达水平分别为(4.41±0.68)%、(23.14±2.04)%、(14.52±0.89)%、(13.83±

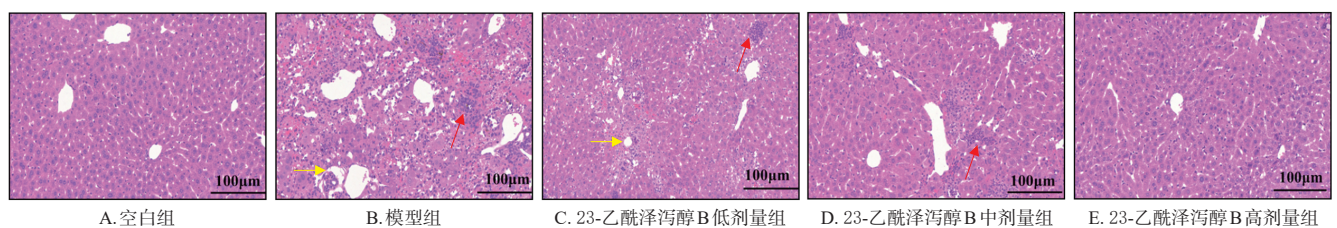
0.76)%、(9.89±0.43)%。与空白组比较,模型组小鼠肝组织中CYP2E1蛋白的表达水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组小鼠肝组织中CYP2E1蛋白的表达水平均显著降低($P<0.01$),且呈剂量依赖趋势。结果见图3。

3.5 小鼠肝组织中Keap1/Nrf2/NQO1信号通路相关蛋白表达的检测结果

与空白组比较,模型组小鼠肝组织中Keap1蛋白的表达水平显著升高,Nrf2、NQO1蛋白的表达水平均显著降低($P<0.01$);与模型组比较,23-乙酰泽泻醇B低、中、高剂量组小鼠肝组织中Keap1蛋白的表达水平均显著降低,Nrf2(23-乙酰泽泻醇B低剂量组除外)、NQO1蛋白的表达水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且呈剂量依赖趋势。结果见图4、表2。

4 讨论

酒精性肝损伤的病理特征以肝细胞TG异常蓄积为核心,同时伴有氧化应激水平升高及炎症因子过度释放,进而诱发肝细胞坏死及纤维化改变^[10-11]。23-乙酰泽泻醇B是从中药泽泻中提取的三萜类天然成分,过往研究已证实其在多种肝损伤模型中具有保护作用:吴珍等^[12]研究指出,该成分可降低高脂饮食诱导的肥胖小鼠的血清TC、TG及肿瘤坏死因子 α 水平,并下调肝脏核因子 κ B、白细胞介素6的表达;Meng等^[13]研究发现,其对胆汁淤积性肝损伤也有明显的改善效果。然而,该成分在急性酒精性肝损伤中的作用及机制尚缺乏系统研究。基于此,本研究采用高度白酒灌胃的方式建立小鼠急性酒精性肝损伤模型,从肝功能、脂质代谢、氧化应激以及Keap1/Nrf2/NQO1信号通路等层面评价23-乙酰泽泻醇B的干预效果,并对其潜在机制进行初步探讨。



注:红色箭头所指代表炎症细胞浸润;黄色箭头所指代表脂肪空泡和脂滴。

图2 各组小鼠肝组织病理形态观察的显微镜图(HE染色法)

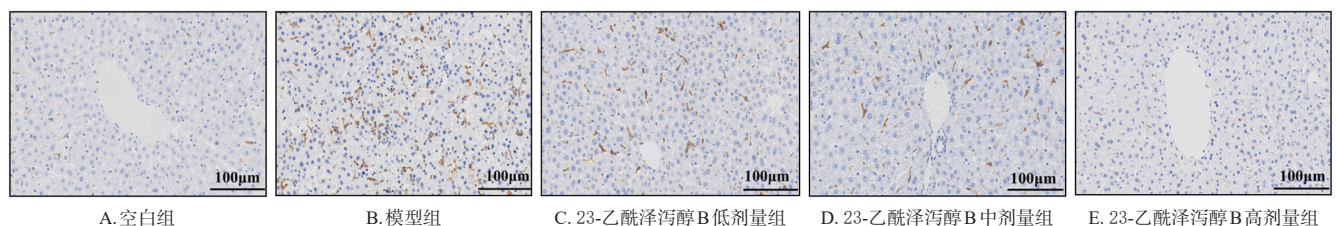
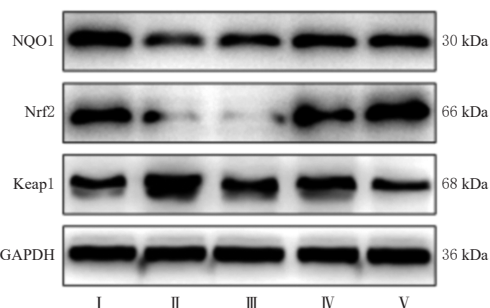


图3 各组小鼠肝组织中CYP2E1蛋白表达的显微镜图(免疫组化法)



I:空白组;II:模型组;III:23-乙酰泽泻醇B低剂量组;IV:23-乙酰泽泻醇B中剂量组;V:23-乙酰泽泻醇B高剂量组。

图4 各组小鼠肝组织中Keap1、Nrf2、NQO1蛋白表达的电泳图

表2 各组小鼠肝组织中Keap1、Nrf2、NQO1蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	Keap1/GAPDH	Nrf2/GAPDH	NQO1/GAPDH
空白组	1.02±0.06	1.21±0.07	1.32±0.14
模型组	2.14±0.09 ^a	0.27±0.05 ^a	0.35±0.11 ^a
23-乙酰泽泻醇B低剂量组	1.35±0.13 ^b	0.14±0.04	0.64±0.07 ^b
23-乙酰泽泻醇B中剂量组	1.73±0.04 ^c	0.83±0.06 ^c	0.79±0.08 ^c
23-乙酰泽泻醇B高剂量组	1.24±0.06 ^c	1.32±0.11 ^c	0.92±0.23 ^c

a:与空白组比较, $P<0.01$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与模型组比较, $P<0.01$ 。

周慧雨等^[14]研究表明,急性酒精暴露会导致小鼠肝脏出现肿胀、充血现象,通过HE染色能够观察到炎症细胞浸润及大量脂肪空泡。本研究的组织病理学观察结果与上述研究高度一致,即模型组小鼠肝组织中可见肝细胞索排列杂乱、大量脂肪空泡及炎症细胞浸润,表明急性酒精性肝损伤模型复制成功。ALT和AST主要分布于肝细胞质和线粒体,当肝细胞膜完整性遭到破坏或细胞发生坏死时,二者会被释放入血,从而导致血清ALT、AST水平显著升高^[15]。王永岚等^[16]在急性酒精性肝损伤模型研究中发现,模型组小鼠血清ALT、AST水平显著提高。本研究结果与之相符,即模型组小鼠血清ALT、AST水平均较空白组显著升高;经过23-乙酰泽泻醇B干预后,各药物组小鼠血清中ALT、AST水平均显著降低,且呈剂量依赖趋势。这一效应可能与23-乙酰泽泻醇B直接结合ALT/AST活性中心、改变酶蛋白空间构象进而抑制酶蛋白催化活性相关。研究指出,酒精暴露会干扰肝脏脂质稳态:一方面,酒精会增强脂肪酸合成酶及TG合成关键酶的活性,推动乙酰辅酶A向脂肪酸转化;另一方面,酒精会影响TC的摄取、合成与转运,最终导致脂质在肝细胞内异常堆积^[17]。本研究血清脂质代谢指标检测结果显示,模型组小鼠血清TC、TG水平均较空白组显著升高,与前述病理生理机制相吻合;而23-乙酰泽泻醇B干预可显著降低大鼠血清TC、TG水平,提示该成分能够有效改善酒精诱导的脂质代谢紊乱。

CYP2E1是酒精分解的关键酶,可将酒精氧化为乙醛,随后乙醛在乙醛脱氢酶的作用下进一步氧化为乙酸,最终分解为二氧化碳和水并排出体外。然而,过量的酒精可诱导CYP2E1活性增强^[4]。本研究的免疫组化实验结果显示,模型组小鼠肝组织中CYP2E1蛋白的表达水平较空白组显著升高;经23-乙酰泽泻醇B干预后,各药物组小鼠肝组织中CYP2E1蛋白的表达水平均显著降低。Fu等^[18]研究表明,23-乙酰泽泻醇B可通过诱导小异二聚体伴侣的表达来抑制CYP7A1活性。据此推测,该成分可能通过干扰CYP2E1与辅助因子的结合,或影响其转录调控,进而在酒精性脂肪肝状态下抑制CYP2E1的过表达。

CYP2E1过度激活产生的活性氧簇能够直接对线粒体膜脂质发起攻击,致使脂质过氧化产物MDA堆积以及还原型GSH耗竭^[19]。本研究结果显示,相较于空白组,模型组小鼠血清MDA水平显著升高,GSH水平显著降低;经23-乙酰泽泻醇B干预后,上述指标出现显著逆转,提示该成分能增强模型小鼠肝脏的抗氧化能力。Keap1/Nrf2/NQO1是维持细胞内氧化还原稳态的关键信号通路;在生理状态下,Keap1以二聚体的形式与Nrf2相结合,通过泛素-蛋白酶体途径使细胞质中的Nrf2维持在较低水平;在氧化应激刺激下,Nrf2发生解离并向细胞核转位,进而启动NQO1等II相解毒酶编码基因的表达^[20]。刘玲玲等^[21]在酒精性肝损伤小鼠模型中发现,Nrf2、NQO1蛋白表达显著下调。本研究的Western blot结果与之相符,即模型组小鼠肝组织中Keap1蛋白的表达水平显著升高,Nrf2、NQO1蛋白的表达水平均显著降低;而23-乙酰泽泻醇B干预能显著逆转Keap1、Nrf2、NQO1蛋白的表达。需注意的是,Nrf2在23-乙酰泽泻醇B低剂量组中的表达无明显变化,推测可能与低剂量下Nrf2的活化程度较低,尚不足以引起总蛋白的显著累积有关。上述结果提示,23-乙酰泽泻醇B可增强急性酒精性肝损伤小鼠肝脏的抗氧化防御能力,从而减轻酒精导致的氧化损伤,且上述作用可能与调节抗氧化信号通路有关。

本研究存在以下局限:(1)本研究为动物模型实验,仅从蛋白表达层面探究了相关信号通路的变化,并未进一步借助基因敲除、抑制剂干预或过表达等手段来验证其因果关联;(2)本研究聚焦于急性酒精性肝损伤模型,23-乙酰泽泻醇B对长期酒精暴露或慢性肝损伤的预防及干预效果尚不明确。未来研究可在以下方向深入推进:运用细胞模型及基因编辑技术,进一步明确23-乙酰泽泻醇B作用于Keap1/Nrf2/NQO1信号通路的具体分子靶点;开展长期毒性及药代动力学研究,系统评估该

成分的安全性及体内过程;探寻其在慢性ALD、非酒精性脂肪肝等更多肝病模型中的保护效果及协同用药潜力。

综上所述,23-乙酰泽泻醇B能够改善酒精急性暴露所引发的小鼠肝损伤,其机制可能与调控Keap1/Nrf2/NQO1信号通路以发挥抗氧化应激作用,同时改善肝脏脂质代谢有关。

参考文献

[1] LAMAS-PAZ A, HAO F J, NELSON L J, et al. Alcoholic liver disease: utility of animal models[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(45): 5063-5075.

[2] HU Y, WANG S X, WU L, et al. Puerarin inhibits inflammation and lipid accumulation in alcoholic liver disease through regulating MMP8[J]. Chin J Nat Med, 2023, 21(9): 670-681.

[3] ZHANG W J, SONG Q, BI X F, et al. Preparation of *Pueraria lobata* root-derived exosome-like nanovesicles and evaluation of their effects on mitigating alcoholic intoxication and promoting alcohol metabolism in mice[J]. Int J Nanomedicine, 2024, 19: 4907-4921.

[4] JUNG Y S, RADHAKRISHNAN K, HAMMAD S, et al. ERR γ -inducible FGF23 promotes alcoholic liver injury through enhancing CYP2E1 mediated hepatic oxidative stress[J]. Redox Biol, 2024, 71: 103107.

[5] 张晓晶, 武瑞, 黄伟, 等. 还原型谷胱甘肽联合多烯磷脂酰胆碱治疗酒精性肝病临床疗效观察[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(21): 2603-2605, 2609.

[6] 戴梦翔, 金姝娜, 宋成武, 等. 泽泻及其炮制品化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(5): 1620-1635.

[7] GALICIA-MORENO M, LUCANO-LANDEROS S, MONROY-RAMIREZ H C, et al. Roles of Nrf2 in liver diseases: molecular, pharmacological, and epigenetic aspects[J]. Antioxidants (Basel), 2020, 9(10): 980.

[8] SHARMA A, ANAND S K, SINGH N, et al. Berberine induced AMPK activation regulates mTOR/SREBP-1c axis and Nrf2/ARE pathway to allay lipid accumulation and oxidative stress in steatotic HepG2 cells[J]. Eur J Pharmacol, 2020, 882: 173244.

[9] 唐莹莹, 贾夏丽, 王金圆, 等. 23-乙酰泽泻醇B对千里光碱致急性肝损伤小鼠水液失衡的影响[J]. 药学报, 2024, 59(7): 1982-1992.

[10] DUNN W, SHAH V H. Pathogenesis of alcoholic liver disease[J]. Clin Liver Dis, 2016, 20(3): 445-456.

[11] YAN C Y, HU W T, TU J Q, et al. Pathogenic mechanisms and regulatory factors involved in alcoholic liver disease[J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 300.

[12] 吴珍, 魏瑶, 杨玉姣, 等. 23-乙酰泽泻醇B对肥胖模型小鼠糖脂代谢紊乱的改善作用[J]. 中国药房, 2021, 32(9): 1057-1062.

[13] MENG Q, CHEN X L, WANG C Y, et al. Protective effects of alisol B 23-acetate via farnesoid X receptor-mediated regulation of transporters and enzymes in estrogen-induced cholestatic liver injury in mice[J]. Pharm Res, 2015, 32(11): 3688-3698.

[14] 周慧雨, 牛立云, 刘慧蒙, 等. 药食同源组合物对小鼠急性酒精性肝损伤保护作用研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(20): 259-264.

[15] MALNICK S D H, ALIN P, SOMIN M, et al. Fatty liver disease-alcoholic and non-alcoholic: similar but different[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(24): 16226.

[16] 文永岚, 王瑜, 万科, 等. 刺梨酵素化果醋对小鼠急性酒精性肝损伤的改善作用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(4): 26-32.

[17] WANG S S, SHENG F Y, ZOU L, et al. Hyperoside attenuates non-alcoholic fatty liver disease in rats via cholesterol metabolism and bile acid metabolism[J]. J Adv Res, 2021, 34: 109-122.

[18] FU Y, FENG H, DING X, et al. Alisol B₂₃-acetate adjusts bile acid metabolism via hepatic FXR-BSEP signaling activation to alleviate atherosclerosis[J]. Phytomedicine, 2022, 101: 154120.

[19] XIAO Z J, YU X F, ZHANG S, et al. The expression levels and significance of GSH, MDA, SOD, and 8-OHdG in osteochondral defects of rabbit knee joints[J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 6916179.

[20] O'ROURKE S A, SHANLEY L C, DUNNE A. The Nrf2-HO-1 system and inflammation[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1457010.

[21] 刘玲玲, 张鲁宁, 姜胜男, 等. 基于Keap1/Nrf2/ARE信号通路探讨丹皮酚改善酒精性肝、脑损伤小鼠氧化应激损伤与炎症的作用机制[J]. 安徽中医药大学学报, 2024, 43(2): 73-80.

(收稿日期:2025-11-10 修回日期:2026-02-28)

(编辑:舒安琴)