

谭电波,刘中华,杜青,等. 丹参绞股蓝茶对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤细胞炎症凋亡保护作用和机制研究 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(11): 1417-1423.

TAN D B, LIU Z H, DU Q, et al. Protective effect and mechanism of Salvia miltiorrhiza Bunge gynostemma pentaphyllum tea on apoptosis of mice cells with acute liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(11): 1417-1423. Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.11.006

丹参绞股蓝茶对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤 细胞炎症凋亡保护作用和机制研究

谭电波¹,刘中华²,杜青¹,曾宏亮¹,李跃辉^{1*}

(1. 湖南省中医药研究院,长沙 410006;2. 湖南善源生物科技有限公司,湖南 岳阳 410500)

【摘要】 目的 基于沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1)/高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group protein B1, HMGB1)/核转录因子- κ B (nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B) 信号轴探讨丹参绞股蓝茶对四氯化碳 (carbon tetrachloride, CCl₄) 所致小鼠急性肝损伤肝细胞炎症凋亡反应的抑制作用和机制研究。**方法** C57BL/6 小鼠随机分为正常组、模型组、白藜芦醇组、丹参绞股蓝茶低、中、高剂量组、阳性药组,连续灌胃给药 14 d。采用腹腔注射 0.5% CCl₄ 橄榄油溶液 (5 mL/kg) 的方法建立小鼠急性肝损伤模型。生化法检测小鼠血清中丙氨酸转移酶 (alanine transferase, ALT)、天冬氨酸转移酶 (aspartate transferase, AST)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 及肝组织羟脯氨酸 (hydroxyproline, Hyp)、丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 水平;酶联免疫吸附法检测血清炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 水平;苏木素-伊红 (HE) 染色和 TUNEL 染色检测肝组织病理形态结构和肝细胞凋亡情况;Western Blot 检测 SIRT1、HMGB1 和 NF- κ B 蛋白表达。**结果** 与正常组比较,模型组小鼠血清 ALT、AST、LDH 水平和肝组织 Hyp 活性显著升高,以及肝组织中 MDA 和 SOD 活性明显降低,血清炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),肝组织存在明显的病理损伤以及肝细胞凋亡情况,肝组织中 SIRT1 蛋白的表达明显降低,HMGB1 和 NF- κ B 蛋白的表达升高;与模型组比较,丹参绞股蓝茶高剂量组和白藜芦醇组小鼠血清肝功能指标 ALT、AST、LDH 水平和肝组织 Hyp 活性显著降低,以及肝组织中 MDA 和 SOD 活性明显增加,血清炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著降低,肝组织的病理损伤以及肝细胞凋亡情况得到明显改善,肝组织中 SIRT1 蛋白表达增加,HMGB1 和 NF- κ B 蛋白的表达降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 丹参绞股蓝茶能有效保护急性肝损伤,其作用机制可能与调控 SIRT1/HMGB1/NF- κ B 信号通路,减轻肝细胞炎症凋亡有关。

【关键词】 急性肝损伤;炎症凋亡;沉默信息调节因子 1;高迁移率族蛋白 B1;核转录因子- κ B

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 11-1417-07

Protective effect and mechanism of Salvia miltiorrhiza Bunge gynostemma pentaphyllum tea on apoptosis of mice cells with acute liver injury induced by carbon tetrachloride

TAN Dianbo¹, LIU Zhonghua², DU Qing¹, ZENG Hongliang¹, LI Yuehui^{1*}

(1. Hunan Province Chinese Medicine Research Institute, Changsha 410006, China;

2. Hunan Shanyuan Biotechnology Co., Ltd., Yueyang 410500, China)

Corresponding author: LI Yuehui. E-mail: 410256518@qq.com

【Abstract】 Objective Use of silencing information regulatory factor 1 (SIRT1)/high mobility group protein B1 (HMGB1)/nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) to investigate the inhibitory effect and mechanism of Salvia

【基金项目】 湖南省中医药管理局 (中医药名医名方制剂重点研究室)。

Funded by Hunan Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine (Key Laboratory of Famous Chinese Medicine Prescriptions).

【作者简介】 谭电波,男,研究员,研究方向:中医药新产品研发。Email:908191609@qq.com

【通信作者】 李跃辉,女,硕士生导师,研究员,研究方向:中药与大健康产品研发。Email:410256518@qq.com

multiorrhiza Bunge gynostemma pentaphyllum tea on hepatocyte inflammatory apoptosis in mice with carbon tetrachloride (CCl_4)-induced acute liver injury. **Methods** C57BL/6 mice were randomly divided into a control group; model group; resveratrol group; Salvia multiorrhiza Bunge gynostemma pentaphyllum tea low-, medium-, and high-dose groups; and a positive drug group. The mice were given continuous intragastric administration of the treatments for 14 days. An acute liver injury model was established by intraperitoneal injection of 0.5% CCl_4 olive oil solution (5 mL/kg). The levels of alanine transferase (ALT), aspartate transferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH) in serum and hydroxyproline (Hyp), malondialdehyde (MDA), and superoxide dismutase (SOD) in the liver were determined by biochemical method. Serum levels of inflammatory tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-6, and IL-1 β were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Eosin-hematoxylin and terminal deoxynucleotidyl transferase deoxyuridine triphosphate nick end labeling (TUNEL) staining were used to examine the pathological morphology and apoptosis in liver tissues. The protein expression of SIRT1, HMGB1, and NF- κ B were detected by Western Blot. **Results** Compared with those of the control group, the model group's serum ALT, AST, and LDH levels and liver tissue Hyp activity were significantly increased; MDA and SOD activities in liver tissue were significantly decreased; the levels of inflammatory factors TNF- α , IL-6, and IL-1 β in liver tissue were significantly increased; and there were obvious signs of pathological injury and hepatocyte apoptosis in the liver tissue. The expression of SIRT1 protein decreased significantly, while the expression of HMGB1 and NF- κ B proteins increased, in liver tissue. Compared with those of the model group, the Salvia multiorrhiza Bunge gynostemma pentaphyllum tea high group and resveratrol group serum levels of ALT, AST, and LDH and liver tissue Hyp activity were significantly decreased; MDA and SOD activities in liver tissue were significantly increased; the levels of serum inflammatory factors TNF- α , IL-6, and IL-1 β were decreased; and pathological injury to liver tissue and the apoptosis of liver cells were significantly improved. The expression of SIRT1 protein in liver tissue was increased, while the expression of HMGB1 and NF- κ B protein were decreased in the Salvia multiorrhiza Bunge gynostemma pentaphyllum tea high-dose group and resveratrol group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusions** Salvia multiorrhiza Bunge gynostemma pentaphyllum tea effectively protects against acute liver injury, and its mechanisms may be related to the regulation of the SIRT1/HMGB1/NF- κ B signaling pathway and the alleviation hepatocyte inflammatory apoptosis.

[Keywords] acute liver injury; inflammatory apoptosis; silent information regulator 1; high mobility group protein B1; nuclear transcription factor- κ B

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

急慢性肝病皆可能诱导不可逆的肝损伤,并导致肝功能衰竭,给人类造成了巨大的经济负担和生存健康问题,研制有效预防和治疗肝病的药物显得尤为重要^[1]。肝作为人体最大的代谢器官,常常遭受着包括病毒、创伤、化学试剂等因素的侵袭,这成为诱发各种肝病的主要原因^[2]。化学药物所致的急性肝损伤是临床最为常见诱发严重性肝病的因素之一,极易发展成急性肝功能衰竭危及患者生命。比较经典的建立急性肝损伤的动物模型有四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)诱导的化学药物性损伤。可促使肝细胞膜通透性改变和脂质过氧化,并分泌大量致炎因子,使肝细胞凋亡、坏死^[3]。肝免疫系统紊乱在急性肝损伤的发病机制中扮演了重要角色。丹参绞股蓝茶由黄芪提取物、桑葚提取物、绿茶、绞股蓝、丹参、蒲公英、罗汉果组成,具有明显的增强免疫及化学性肝损伤的辅助保护功能,但作用机制尚未明确。近年来,沉默信息调节因子 1(silent information regulator 1, SIRT1)在肝损

伤中的保护作用被广泛研究, SIRT1 缺陷可触发核转录因子- κ B(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)激活和促炎基因程序, SIRT1 的小分子激活剂构成肝损伤的潜在治疗靶点^[4]。本研究通过建立 CCl_4 诱导的急性肝损伤小鼠模型,以 SIRT1 激动剂白藜芦醇为对照,基于炎症相关信号通路 SIRT1/高迁移率族蛋白 B1(high mobility group protein B1, HMGB1)/NF- κ B 探讨丹参绞股蓝茶对 CCl_4 所致小鼠急性肝损伤肝细胞炎症性凋亡反应的抑制作用和分子机制,为丹参绞股蓝茶保肝作用的推广应用提供科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选取体重 18 ~ 22 g, 70 只 8 周龄雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠,从湖南斯莱克景达实验动物有限公司购买【SCXK(湘)2019-0004】,动物饲养在湖南省

中医药研究院实验动物中心【SYXK(湘)2022-0008】，饲养环境：光照为 12 h 明暗交替，实验室相对湿度 40% ~ 70%，温度 20 ~ 26 ℃，允许小鼠自由饮水和摄食。本实验程序经过湖南省中医药研究院实验动物伦理委员会审批(2022-0026)。

1.1.2 主要试剂与仪器

丹参绞股蓝茶(由黄芪提取物、桑葚提取物、绿茶、绞股蓝、丹参、蒲公英、罗汉果组成,长沙清尔康生物科技有限公司),双环醇片(批号:220206,北京协和药厂有限公司),白藜芦醇(批号:R107315,湖南创尔生物科技有限公司),羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(批号:AF5296-1、AF103F-1、AF1180-1,湖南艾方生物科技有限公司);肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)试剂盒(批号:AF2132-A、AF2163-A、AF2040-A,湖南艾方生物科技有限公司),SIRT1、HMGB1、NF- κ B 一抗(批号:AF03448、AF300121、AF300096,湖南艾方生物科技有限公司),GAPDH 一抗(批号:YM3029,Immunoway 公司),丙氨酸转移酶(alanine transferase, ALT)、天冬氨酸转移酶(aspartate transferase, AST)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)(批号:008AS,上海科华生物工程股份有限公司)。核糖苷酸末端转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TdT-mediated dUTP nick-end labeling, TUNEL)检测试剂盒(批号:11684817910, 罗氏公司)。

BX53 生物显微镜(Olympus 公司,日本),Envision2105 型酶标仪(PE 公司,美国),PANNORAMIC 型全景切片扫描仪(3DHISTECH 公司,匈牙利),Gel Doc XR Biorad 凝胶成像仪(Bio-Rad 公司,美国),D3024R 台式高速冷冻离心机(DRAGONLAB 公司,中国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组给药与造模

将小鼠按体重随机分为正常组、模型组、白藜芦醇组、丹参绞股蓝茶低、中、高剂量组、阳性药组,每组 10 只,白藜芦醇组和丹参绞股蓝茶各组连续灌胃给予相应剂量药物 14 d,给药体积按照 20 mL/kg 进行,正常组和模型组给予等体积纯净水。末次给药 1 h 后,正常组小鼠腹腔注射等体积橄榄油溶液,

其余各组小鼠均腹腔注射 0.5% CCl₄ 橄榄油溶液(5 mL/kg),复制急性肝损伤小鼠模型。

1.2.2 样本采集

急性肝损伤模型建立 24 h 后,眼眶取血,离心(3500 r/min, 10 min),取上清液, -80 ℃ 冰箱保存待用,处死小鼠,钝性分离出肝组织,4 ℃ 生理盐水冲洗表面残留血液,取两叶肝保存在 10% 中性甲醛固定液中,固定 48 h 后待用;剩余肝组织液氮速冻后, -80 ℃ 冰箱保存待用。

1.2.3 血清和肝生化指标检测

按照试剂盒说明书指导,通过测定各组小鼠血清中 ALT、AST 和 LDH 的活性,肝匀浆 Hyp、MDA 和 SOD 水平,用来评价肝损伤。

1.2.4 血清炎症因子检测

使用酶联免疫吸附法(ELISA),按照试剂盒说明书指导,测定血清中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平。

1.2.5 肝组织病理学检测

取固定在 10% 中性甲醛中相同位置的肝组织样本,包埋在石蜡中,以 5 μ m 厚片进行连续切片并固定,采用苏木素-伊红(HE)染色,封片,在光学显微镜下(400 $\times$)观察肝组织炎性细胞浸润,病理结构改变情况。肝损伤评分采用 5 个指标进行评分:空泡、核固缩、核碎裂、红细胞停滞、炎症细胞浸润,采集 5 个视野中这些细胞变化百分比进行评分:0 = 0%;1 = 0% ~ 10%;2 = 10% ~ 50%;3 = 50% ~ 100%,总分越高,损伤越严重。

1.2.6 肝组织细胞凋亡情况检测

将上述石蜡切片加热(62 ℃, 60 min)脱蜡,二甲苯浸泡,梯度乙醇水化,按照 TUNEL 染色组织凋亡检测试剂盒说明书进行蛋白酶处理和抗原修复,37 ℃ 孵育,DAB 核染,中性树脂封片,荧光显微镜下观察肝细胞凋亡情况,使用 Image-Pro Plus 6.0 软件对以绿色细胞核为特征的 TUNEL 阳性细胞进行计数。

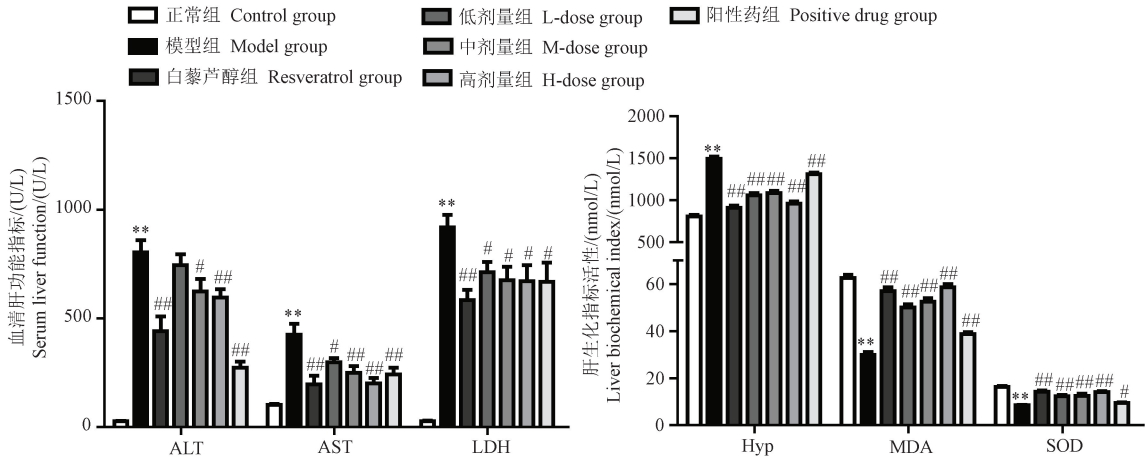
1.2.7 SIRT1/HMGB1/NF- κ B 蛋白表达检测

采用 Western Blot 法检测肝组织中 SIRT1、HMGB1 和 NF- κ B 蛋白表达情况。取冻存的肝组织,按照试剂盒说明书,使用 RIPA 裂解缓冲液提取组织中的总蛋白,每个样品取 30 μ g 蛋白高温变性,通过 SDS-PAGE 进行电泳分离,并转移到 PVDF 膜上。5% 无脂牛奶封闭,1 ~ 2 h, TBST 稀释靶向 SIRT1、HMGB1、NF- κ B 和 actin 的一抗室温孵育

2 h, TBST 洗涤,二抗室温孵育 1 h。通过增强化学发光(ECL)底物来确定蛋白质丰度,GAPDH 用作内标,在暗盒内与 X 胶片曝光 1 ~ 30 min 进行显影,Quantity one V4. 4. 6 专业灰度分析软件进行分析。

1.3 统计学分析

采用统计软件 SPSS 17.0 进行统计分析,计量资料以平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差(One-way ANOVA)分析,不服从正态分布采用非参数检验, $P < 0.05$ 为具有统计学意义。



注:与正常组相比,** $P < 0.01$;与模型组相比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。(下图同)

Figure 1 小鼠血清肝功能和肝生化指标

Note. Compared with control group, ** $P < 0.01$. Compared with model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 1 Serum liver function and liver biochemical indexes of mice

加,具有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),与激活剂白藜芦醇组和阳性药组作用趋势一致。

2.2 血清炎症因子水平变化

ELISA 检测结果如图 2 所示,与正常组比较,模型组小鼠血清炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平显著增多($P < 0.01$);与模型组比较,丹参绞股蓝茶高剂量组和白藜芦醇组小鼠血清炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),具有显著性差异,这与阳性药组趋势一致。

2.3 肝形态学结构和细胞凋亡情况变化

HE 染色和 TUNEL 染色结果如图 3,4 所示,正常组小鼠肝组织小叶结构清晰完整,无变性坏死,肝细胞间隙紧密,呈现放射状排列,未见明显的病理损伤和肝细胞凋亡坏死;模型组小鼠肝组织结构紊乱,肝细胞排列松散,间隙增大,核固缩或空泡化,形成大量炎性小灶,存在淋巴细胞炎性浸润,肝细胞 TUNEL 阳性率显著增加($P < 0.01$),细胞凋亡增多;丹参绞股蓝茶高剂量组和阳性药组小鼠肝组织结构紊乱得到不同程度的改善,可见少量肝细胞

2 结果

2.1 血清肝功能和肝生化指标变化

如图 1 所示,与正常组比较,模型组血清 ALT、AST 和 LDH 水平显著升高($P < 0.01$),肝组织中 Hyp 活性明显升高,MDA 和 SOD 活性明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,丹参绞股蓝茶高、中剂量组小鼠血清 ALT、AST 和 LDH 水平明显降低,以及肝组织中 Hyp 活性减少、MDA 和 SOD 活性明显增

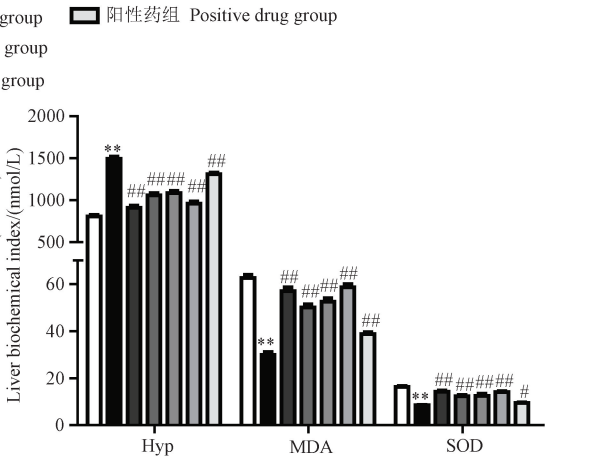


Figure 2 小鼠血清炎症因子水平

Figure 2 Serum inflammatory factors in mice

肿胀和炎性细胞浸润,肝细胞 TUNEL 阳性率显著减少($P < 0.05$),凋亡细胞降低;丹参绞股蓝茶中、低剂量组小鼠肝组织结构紊乱改善不明显,炎性细胞浸润情况类似模型组,肝细胞 TUNEL 阳性率改变无统计学意义。

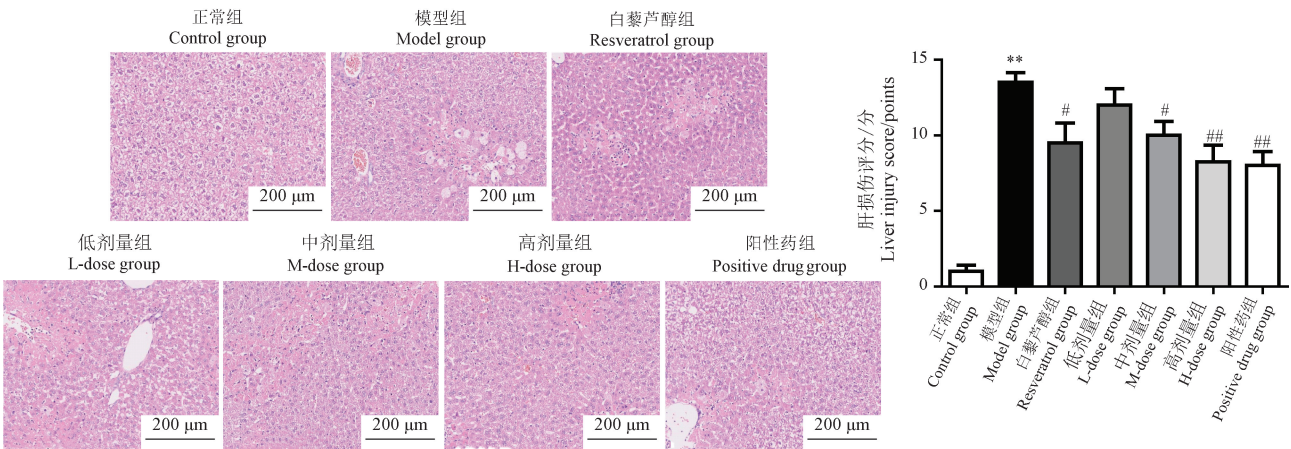


图 3 小鼠肝形态学结构
Figure 3 Liver morphological structure of mice

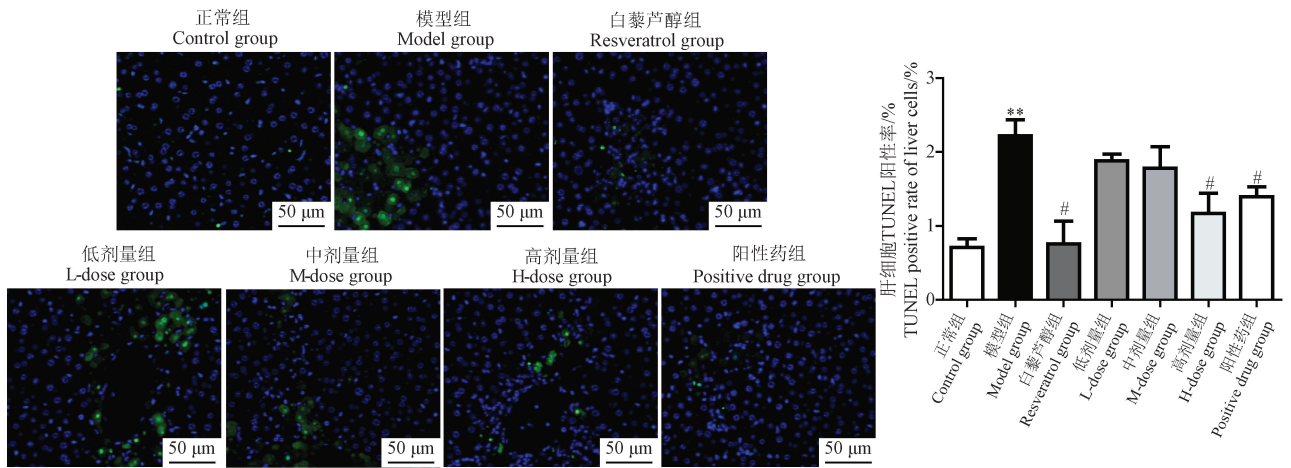


图 4 小鼠肝损伤和细胞凋亡情况
Figure 4 Liver tissue injury and liver morphological cell apoptosis in mice

2.4 肝中 SIRT1/HMGB1/NF-κB 蛋白表达变化

Western Blot 法定量检测结果如图 5 所示,与正常组比较,模型组小鼠肝组织中 SIRT1 蛋白灰度值相对表达量明显降低, HMGB1 和 NF-κB 蛋白灰度值相对表达量明显升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,

丹参绞股蓝茶高、中剂量组和白藜芦醇组小鼠肝组织中 SIRT1 蛋白灰度值相对表达量明显增加, HMGB1 和 NF-κB 蛋白灰度值相对表达量明显降低 ($P < 0.05$),丹参绞股蓝茶低剂量组上述指标的相对表达量有改变趋势,但无显著性差异。

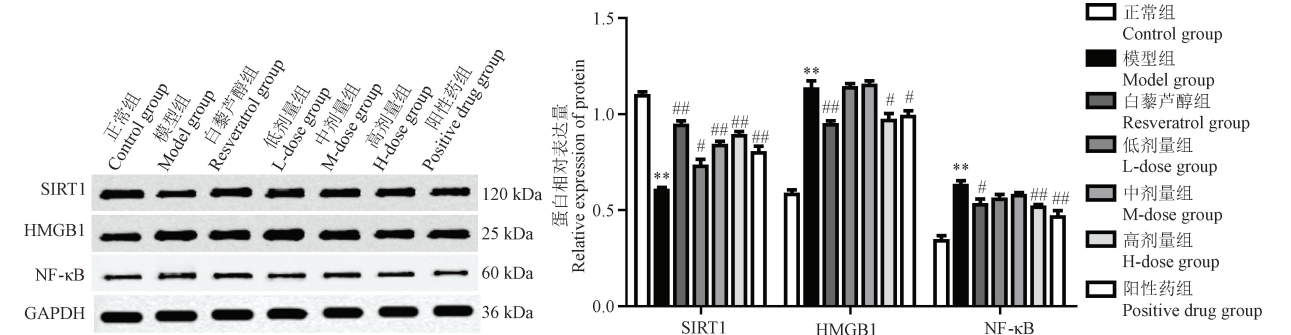


图 5 小鼠肝组织中 SIRT1、HMGB1 和 NF-κB 蛋白相对表达量
Figure 5 Relative expression of SIRT1, HMGB1 and NF-κB protein in liver of mice

3 讨论

肝损伤是各种肝病的共同病理基础,并逐渐年轻化,因其流行性和多样性在人群中广泛传播,一度成为研究的热点。急性肝损伤发病机制复杂,涉及肝细胞氧化应激、炎症效应和凋亡坏死等多个过程的相互作用^[5]。表征肝功能损伤的常见标志性指标包括血清 ALT、AST 和 LDH,当肝细胞膜通透性增加,细胞出现损伤时,这些指标活性被明显改变^[6]。本研究发现,急性肝损伤小鼠的肝组织结构紊乱,肝细胞核固缩肿胀或空泡,可见大量炎症细胞浸润,丹参绞股蓝茶可明显改善肝组织损伤,调控上述指标的变化,研究人员推测其可发挥明显的保护肝损伤的作用。

MDA 和 SOD 是肝中重要的抗氧化酶,是反应体内自由基清除和脂质过氧化程度的关键常见评价指标^[7]。肝毒素 CCl₄ 主要在肝中进行代谢,可诱导的肝氧化应激,如果这种应激反应不能得到有效及时的缓解,可能会促进免疫细胞巨噬细胞等释放大炎症因子,诱导细胞凋亡,同时,作为肝细胞损伤最敏感的指标之一 Hyp 也会升高,诱发肝纤维化进程^[8]。肝中的吞噬巨噬细胞的激活,会导致大量促炎症介质,如 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 等的释放,并促使其他炎症细胞(浸润性巨噬细胞和中性粒细胞等)的活化,扩大的炎症反应可能导致组织修复异常^[9]。有报道表明,CCl₄ 诱导的急性肝损伤模型表现出明显的血清炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达激增,并激活下游炎症信号通路^[10]。本研究与上述文献报道^[10]一致,并且在给予丹参绞股蓝茶干预后,肝中的抗氧化酶活性增加,血清中这些炎症因子的表达明显降低,说明丹参绞股蓝茶可以减轻急性肝损伤体内氧化应激损伤,稳定肝细胞结构,减少炎症细胞浸润。基于以上结果,本研究对其具体作用机制进行了进一步探讨。

肝细胞炎症性凋亡会加速肝器官衰竭的可能,其在急性肝损伤过程中发挥关键作用。SIRT1 是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)-依赖性组蛋白脱乙酰酶,广泛分布于肝等重要代谢组织,通过调节肝脂质代谢、控制肝氧化应激和脱乙酰化一些转录调节因子,在肝炎症的调节中发挥着有益作用^[11]。研究发现,SIRT1 激活剂白藜芦醇可显著上调肝中 SIRT1 的表达,并减轻脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)或 CCl₄ 诱导的急性肝损伤^[12];还可通过介导

HMGB1 核质易位途径保护脓毒症诱导的肝损伤,这是肝损伤的一个新的潜在治疗靶点^[13]。高迁移率族蛋白 1(high mobility group protein 1, HMGB1)作为一种重要的炎症细胞因子,在急性肝损伤中起关键作用的损伤相关分子模式(damage associated molecular pattern, DAMP),可由凋亡或坏死的细胞被动释放,或由活化的免疫细胞主动分泌到细胞外环境,通过结合特定的细胞表面受体,从而启动对损伤的先天炎症反应信号通路,加速炎症过程^[14]。在 LPS 诱导的肝损伤小鼠模型中,肝细胞外 HMGB1 通过激活 TLR4 信号传导并诱导 NF- κ B 的亚单位转移到细胞核,增加促炎症因子的表达而加重肝损伤,阻断 HMGB1 及其受体的信号通路,可以降低肝细胞凋亡反应^[15-16]。

本研究显示,相比模型组,丹参绞股蓝茶各组能明显调控 CCl₄ 诱导的急性肝损伤的肝组织中炎症蛋白 SIRT1、HMGB1 和 NF- κ B 的表达,并且与 SIRT1 激动剂白藜芦醇组和阳性药组作用相似,这进一步证实 SIRT1 在急性肝损伤中的靶点地位。在本研究中,通过检测 C57BL/6 小鼠血清肝生化指标、组织病理结构、分子生物学等多层面指标变化,整体评价丹参绞股蓝茶对急性肝损伤的炎症浸润及肝细胞凋亡保护作用及分子机制,可能与调控信号通路 SIRT1/HMGB1/NF- κ B 有关。丹参绞股蓝茶作为药食两用的绿色健康的保健茶饮,丰富了传统茶类的多样性,本研究为丹参绞股蓝茶的开发运用提供了更加科学和深入的理论支撑。

参 考 文 献(References)

- [1] DAI C, XIAO X, LI D, et al. Chloroquine ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice via the concomitant inhibition of inflammation and induction of apoptosis [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(12): 1164.
- [2] YANG X, JIN Z, LIN D, et al. FGF21 alleviates acute liver injury by inducing the SIRT1-autophagy signalling pathway [J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(3): 868-879.
- [3] 张艳,江振洲,张陆勇. 补骨脂素对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的改善作用 [J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(5): 596-602.
ZHANG Y, JIANG Z Z, ZHANG L Y. Ameliorative effect of psoralen on acute liver injury induced by carbon tetra-chloride in mice [J]. J Chin Pharm Univ, 2021, 52(5): 596-602.
- [4] INOUE H, SHIMIZU Y, YOSHIKAWA H, et al. Resveratrol upregulates senescence marker protein 30 by activating ampk/sirt1-foxo1 signals and attenuating H₂O₂-induced damage in FAO rat liver cells [J]. J Nutr Sci Vitaminol, 2023, 69(5): 388-393.

[5] SUN X, WANG P, YAO L P, et al. Paeonol alleviated acute alcohol-induced liver injury via SIRT1/Nrf2/NF-κB signaling pathway [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2018, 60: 110-117.

[6] 杜彤, 王宇, 景婧, 等. 阿魏菇多糖对四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2017, 34 (3): 249-253.

DU T, WANG Y, JING J, et al. Hepatoprotective effects of pleurotus ferulae polysaccharide on carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2017, 34(3): 249-253.

[7] ZHANG Q, HU X, HUI F, et al. Ethanol extract and its dichloromethane fraction of *Alpinia oxyphylla* Miquel exhibited hepatoprotective effects against CCl₄-induced oxidative damage *in vitro* and *in vivo* with the involvement of Nrf2 [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 91: 812-822.

[8] 张艳蕾, 崔龙涛, 王琪瑶, 等. 食源性栀子方保护 CCl₄ 诱导小鼠急性和亚急性肝损伤的机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(18): 30-37.

ZHANG Y L, CUI L T, WANG Q Y, et al. Mechanism of food-borne gardenia recipe in protecting acute and subacute liver injury induced by CCl₄ in mice [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2022, 28(18): 30-37.

[9] EUGENIO-PÉREZ D, MONTES DE OCA-SOLANO H A, PEDRAZA-CHAVERRI J. Role of food-derived antioxidant agents against acetaminophen-induced hepatotoxicity [J]. Pharm Biol, 2016, 54(10): 2340-2352.

[10] CHEN R, LIAN Y, WEN S, et al. Shibi tea (*Adinandra nitida*) and camellianin A alleviate CCl₄-induced liver injury in C57BL-6J mice by attenuation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis [J]. Nutrients, 2022, 14(15): 3037.

[11] KADONO K, KAGEYAMA S, NAKAMURA K, et al. Myeloid Ikaros-SIRT1 signaling axis regulates hepatic inflammation and pyroptosis in ischemia-stressed mouse and human liver [J]. J Hepatol, 2022, 76(4): 896-909.

[12] FARGHALI H, KEMELO M K, CANOVÁ N K. SIRT1 modulators in experimentally induced liver injury [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019: 8765954.

[13] NI YA, CHEN H, NIE H, et al. HMGB1: An overview of its roles in the pathogenesis of liver disease [J]. J Leukoc Biol, 202, 110(5): 987-998.

[14] XU W, LU Y, YAO J, et al. Novel role of resveratrol: suppression of high-mobility group protein box 1 nucleocytoplasmic translocation by the upregulation of sirtuin 1 in sepsis-induced liver injury [J]. Shock, 2014, 42 (5): 440-447.

[15] LUO L, WANG S, CHEN B, et al. Inhibition of inflammatory liver injury by the HMGB1-a box through HMGB1/TLR-4/NF-κB signaling in an acute liver failure mouse model [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 990087.

[16] FANG P, DOU B, LIANG J, et al. Quercetin reduces oxidative stress and apoptosis by inhibiting HMGB1 and its translocation, thereby alleviating liver injury in ACLF rats [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 2898995.

[收稿日期] 2024-01-30