

霍山石斛水提取物通过介导 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 减轻小鼠酒精性肝损伤

王凤华¹, 韩吉春^{1,2}, 李德芳¹, 房雪¹, 郑秋生^{1*}

¹滨州医学院中西医结合学院, 烟台 264003; ²安徽斛生记生物科技有限公司, 合肥 230000

摘要: 本研究主要探讨霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠的保护作用及其机制。将 60 只昆明小鼠随机均分成 5 组, 正常组喂饲普通饲料, 模型组喂饲普通饲料 + 52% 白酒 [12 mL/(kg · bw)] 灌胃, 低、中、高剂量石斛组喂饲普通饲料 + 霍山石斛水提取物 (1 g/kg, 5 g/kg 和 10 g/kg) 灌胃 + 52% 白酒灌胃。40 d 后, 测肝功能指标 (ALT、AST)、氧化应激指标 (SOD、MDA)、炎症因子指标 (CRP、TNF- α), 肝脏做 HE 染色切片观察, Western blot 检测了小鼠肝脏组织中 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 的磷酸化水平。切片可见, 中、高剂量石斛组肝脏组织损伤情况较模型组明显减轻。中、高剂量石斛组较模型组 SOD 升高 ($P < 0.01$), ALT、AST、MDA、CRP 和 TNF- α 降低 ($P < 0.01$)。高剂量霍山石斛水提取物可显著抑制酒精性肝损伤诱导的 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 的磷酸化水平升高。结果表明, 霍山石斛水提取物可降低酒精对肝细胞的损伤作用, 其作用机制可能是通过介导 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 发挥抗氧化、抗炎作用来实现的。

关键词: 霍山石斛; 酒精性肝损伤; 抗氧化; 抗炎; NF- κ B/p65; p38 MAPK

中图分类号: R965

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.4.006

Protective Effect of *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng Water Extract on Alcohol-induced Acute Liver Injury by Inhibiting NF- κ B/p65 and p38 MAPK

WANG Feng-hua¹, HAN Ji-chun^{1,2}, LI De-fang¹, FANG Xue¹, ZHENG Qiu-sheng^{1*}

¹Binzhou Medical University, Yantai 264003, China; ²Anhui Hu Sheng Ji Biotechnology Co., Ltd., Anhui 230000, China

Abstract: Alcoholic hepatic injury is caused by the toxicity of long-term drinking attracts more and more attention in recent years. Increasing studies have shown that a variety of bioactive ingredients in *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng (DHC) possessed protective effect on alcoholic liver damage. In present study, the protective effect of DHC on alcoholic liver damage was evaluated and the possible underlying mechanism was explored. This study aimed to provide a reliable theoretical basis for the domain of protecting liver for DHC. The hepatoprotective effects of DHC in a mouse model of acute alcohol-induced liver injury were evaluated based on biochemical indicators and antioxidative capacity of serum and liver in 40 d. Severe liver damage caused by 52% ethanol intake with increasing activation of hepatic markers was decreased in the group of mice fed DHC, and the results were confirmed through hematoxylin and eosin staining. Serum biochemical indicators and antioxidative capacity were abnormal by intragastric administration of 52% ethanol, but recovered by DHC. Furthermore, DHC increased the activity of antioxidant enzymes and reduced inflammatory reactions in liver. The experimental results indicate that DHC had preventive and therapeutic effects against acute alcohol-induced liver injury because it could get down the levels of ALT, AST, CRP, TNF- α , MDA, and make up the levels of SOD. DHC treatment significantly decreased the relative levels of NF- κ B/p65 and the phosphorylation of p38 MAPK. Therefore, the liver effects of DHC may be attributed to its antioxidant and anti-inflammatory activities, NF- κ B/p65 and p38 MAPK may be play important roles in response to acute liver injury and are involved in the inflammatory response and oxidative injury

Key words: *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng water extracts; alcoholic hepatic injury; antioxidant; anti-inflammatory; NF- κ B/p65; p38 MAPK

收稿日期: 2016-12-19 接受日期: 2017-02-27

基金项目: 滨州医学院科研启动基金 (BY2014KYQD01); 山东省高等学校优势学科人才团队培育计划 (LJRZ201605 2410, 李德芳)

* 通讯作者 E-mail: zqsyts@sohu.com

肝脏是酒精的主要代谢器官,过量饮酒可造成肝脏不同程度的损伤。近年来,随着我国社会经济的发展,生活方式和饮食习惯发生巨大的改变,酒精性肝损伤发展而来的酒精性肝病的发病率呈逐年上升趋势^[1]。酒精性脂肪肝为酒精性肝病的早期阶段,目前普遍认为其与氧化应激、脂质代谢紊乱密切相关^[2]。霍山石斛(学名:*Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng)俗称米斛,是兰科石斛属的草本植物,主产于大别山区的安徽省霍山县。具有明目清喉、养胃清热、生津止渴、抗辐射、抗衰老等多种功效,还具有降低心率、减慢呼吸等作用。现代药理研究证明,霍山石斛提取物具有抗氧化和提高机体杀伤肿瘤细胞能力等活性。关于霍山石斛对酒精性脂肪肝的保护作用的研究尚未见报道,本研究以动物实验为基础,用白酒灌胃的方法处理昆明小鼠以模拟体内酒精性肝损伤病变^[5,6],观察霍山石斛预防酒精性肝损伤的作用及机制,有助于深入理解其在预防酒精性肝损伤的过程中所起的作用,为寻找一种预防酒精性肝损伤的保健食品提供实验基础与理论依据,为将来更好地防治酒精性肝病奠定基础。

1 材料与仪器

昆明种雄性小白鼠,体重 25 g 左右,由济南市朋悦实验动物繁育有限公司[许可证号:SCXK(鲁)2014-0007]提供。霍山石斛(由安徽斛生记生物科技有限公司提供);52%北京红星二锅头(产自北京红星股份有限公司);谷丙转氨酶(GPT/ALT)比色法试剂盒、谷草转氨酶(GOT/AST)比色法试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒和丙二醛(MDA)试剂盒(均购自南京建成生物工程研究所)、C反应蛋白试剂盒(CRP)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)试剂盒(均购自美国 Tsz Biosciences 公司)。全自动酶标仪(Thermo 3001 VARIOSKAN FLASH);AR-2140 型万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司制造)。

2 实验方法

2.1 霍山石斛水提取物制备

霍山石斛水提物:取霍山石斛 5 g,置 100 mL 蒸馏水中,冷浸 24 h 后,超声 2 h 过滤,得滤液,滤渣重复上述操作两次,合并三次滤液,65 °C 旋转蒸发仪减压蒸馏浓缩,再用蒸馏水溶解至 10 mL。

2.2 动物饲养与实验分组

60 只健康雄性昆明小鼠(25 ± 2 g)随机均分成 5 组,每组 12 只,在同等条件下适应性喂养 1 周。从第 2 周开始,模型组每天上午用 52% 白酒[12 mL/(kg · bw)]灌胃;正常组组灌胃等量饮用水;低、中、高剂量石斛组每天上午除了用 52% 白酒[12 mL/(kg · bw)]灌胃外,还按照 1、5 和 10 g/kg 剂量霍山石斛水提取物灌胃。40 d 后全部小鼠摘眼取血,分离血清测肝功指标、氧化应激指标、脂肪细胞因子指标。摘取小鼠肝脏做 HE 染色切片,观察肝脏组织损伤情况。

2.3 指标检测

摘除眼球采血,4000 g 离心 10 min,取上层血清待测。血清 ALT、AST、MDA、SOD、CRP 和 TNF- α 活性均按试剂盒说明书测定。

2.4 HE 染色切片观察

取血后处死小鼠,马上摘取肝脏,立即以 0.02 mol/L 冰冷的乙二氨四乙酸(EDTA)溶液洗涤,吸干水分。取相同部位肝脏组织放入 10% 中性甲醛中固定,HE 染色切片,病理学观察,观察每组切片中炎症细胞及组织坏死程度。

2.5 Western blot

将蛋白样品加入 5 × 上样缓冲液后煮沸变性,每孔加入 30 μ g 蛋白,70 V 恒压电泳至溴酚蓝指示剂至分离胶浓缩胶分界处,转为 90 V 恒压电泳至指示剂接近凝胶的底部。将电泳完毕的凝胶按照从正极到负极依次为海绵垫-滤纸-膜-凝胶-滤纸-海绵垫的顺序夹好,250 mA 恒流转膜,冰浴,转膜时间 1 h。采用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后,加入事先稀释过的一抗,在室温下孵育 1 ~ 2 h 或 4 °C 过夜,缓慢摇动。15 mL TBS/T 洗 3 次(5 min/T);加入合适稀释度的碱性磷酸酶(AP)或辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗,室温孵育 1 h,缓慢摇动。15 mL TBS/T 洗 3 次(5 min/T)。采用 ECL 化学发光底物显色,UVP 化学发光成像系统获取图像信息,Image J 软件分析条带光密度值,目的蛋白与其对应的内参比较后,再于正常组比较得出相对表达量(%)。

2.6 统计分析

用 SPSS19.0 软件进行统计分析处理,所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用方差分析,两均数比较用双侧 t 检验分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 霍山石斛水提取物对血清中 AST 和 ALT 活性的影响

为了了解霍山石斛水提取物对肝功能指标的影响,我们检测了血清中 AST 和 ALT 的活性。如表 1 所示,与正常组相比较,模型组血清中的 AST 和 ALT 的活性显著升高($P < 0.01$),而中、高剂量霍山

表 1 霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Prophylactic effect of DHC water extract on the restoration of liver function markers(ALT and AST) in alcoholic hepatic injury mice($n = 10, \bar{x} \pm s$)

| 组别 Group | ALT(U/L) | AST(U/L) |
|----------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| 正常组 Normal control | 14.88 \pm 3.39 | 43.31 \pm 5.13 |
| 模型组 Model | 254.52 \pm 18.86 ^{##} | 167.70 \pm 8.76 ^{##} |
| 低剂量组 Low dose DHC | 235.54 \pm 12.26 | 151.16 \pm 14.34 |
| 中剂量组 Middle dose DHC | 160.20 \pm 5.74 ^{**} | 124.70 \pm 9.57 ^{**} |
| 高剂量组 High Dose DHC | 55.44 \pm 4.82 ^{**} | 90.34 \pm 9.91 ^{**} |

注:与正常组比较,^{##} $P < 0.01$,[#] $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note:[#] $P < 0.05$ and ^{##} $P < 0.01$, compared to the normal control group; ^{*} $P < 0.05$ and ^{**} $P < 0.01$ compared to the model group.

3.2 霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠血清 SOD 活性和 MDA 水平的影响

如表 2 所示,与正常组相比较,40 d 后的模型组的 SOD 活性显著降低,具有显著差异($P < 0.01$);中、高剂量石斛水提取物治疗可以显著的升高 SOD 活性,与模型组比较,具有显著地差异($P < 0.01$)。相对于正常组,模型组血清中 MDA 水平显著增高;

表 2 霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠血清 SOD 和 MDA 的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 2 The effect of DHC water extract pretreatment on oxidative stress parameters(SOD and MDA) in alcoholic hepatic injury mice ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

| 组别 Group | SOD(U/mL) | MDA(nmol/mL) |
|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 正常组 Normal control | 21.27 \pm 0.30 | 4.50 \pm 0.37 |
| 模型组 Model | 14.66 \pm 0.99 ^{##} | 16.94 \pm 3.76 ^{##} |
| 低剂量组 Low dose DHC | 16.24 \pm 0.81 | 17.83 \pm 1.29 |
| 中剂量组 Middle dose DHC | 18.64 \pm 0.50 ^{**} | 11.72 \pm 1.13 [*] |
| 高剂量组 High Dose DHC | 20.77 \pm 0.83 ^{**} | 7.00 \pm 1.19 ^{**} |

注:与正常组比较,^{##} $P < 0.01$,[#] $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note:[#] $P < 0.05$ and ^{##} $P < 0.01$, compared to the normal control group; ^{*} $P < 0.05$ and ^{**} $P < 0.01$ compared to the model group.

3.3 霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠血清 TNF- α 和 CRP 活性的影响

为了观察霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠血清中炎症因子的影响,我们检测了血清中 TNF- α 和 CRP 的活性。如表 3 所示,与正常组相比较,模型组血清中的 TNF- α 和 CRP 的活性显著升高($P < 0.01$),而中、高剂量霍山石斛水提取物可以显著降

低大量饮酒造成的 AST 和 ALT 活性升高。尤其是高剂量霍山石斛水提取物的治疗效果最佳,与模型组之间具有显著性差异($P < 0.01$)。低剂量霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤没有明显的保护作用。这表明霍山石斛水提取物对酒精性肝脏损伤有很好的保护作用,并且存在剂量依赖关系。

与模型组相比较,中、高剂量霍山石斛水提取物均能明显降低 MDA 的水平,其中高剂量霍山石斛水提取物降低 MDA 的效果最好,与模型组之间具有显著性差异($P < 0.01$)。低剂量霍山石斛水提取物对 SOD 的活性和 MDA 的含量均没有显著性的影响。这表明霍山石斛水提取物对酒精性肝脏损伤的保护作用可能与其的抗氧化作用有关。

低大量饮酒造成的 TNF- α 和 CRP 活性升高,尤其是高剂量霍山石斛水提取物降低炎症因子水平的效果最佳,与模型组具有显著性差异($P < 0.01$)。低剂量霍山石斛水提取物能轻微降低长期饮酒造成这 2 种炎症因子的升高,但与模型组之间没有显著性差异。这表明霍山石斛水提取物对酒精性肝脏损伤的保护作用可能与其的抗炎作用有关。

表3 霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠血清 TNF- α 和 CRP 的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)Table 3 Effect of DHC water extract on the levels of TNF- α and CRP in alcoholic hepatic injury mice ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

| 组别 Group | TNF- α (ng/L) | CRP (μ g/L) |
|----------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| 正常组 Normal control | 277.14 \pm 35.85 | 1239.65 \pm 108.88 |
| 模型组 Model | 397.46 \pm 22.33 ^{##} | 2184.95 \pm 186.55 ^{##} |
| 低剂量组 Low dose DHC | 381.43 \pm 12.80 | 2092.81 \pm 76.77 |
| 中剂量组 Middle dose DHC | 354.06 \pm 13.82 [*] | 1888.39 \pm 75.12 [*] |
| 高剂量组 High Dose DHC | 287.30 \pm 30.16 ^{**} | 1583.15 \pm 128.33 ^{**} |

注:与正常组比较,^{##} $P < 0.01$,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note:^{*} $P < 0.05$ and ^{##} $P < 0.01$, compared to the normal control group; ^{*} $P < 0.05$ and ^{**} $P < 0.01$ compared to the model group.

3.4 霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠肝组织学改变的影响

如图1所示,正常组:无脂肪变,肝小叶结构清晰,肝细胞索排列整齐,肝细胞结构清晰,嗜酸性,核大而圆、居中,无炎细胞浸润。模型组:脂肪变,肝中央静脉周围肝细胞索排列紊乱,肝血窦变窄,肝细胞肿胀,胞质疏松,胞质内可见大小不等、数量不一的圆形脂肪空泡,有大量的炎细胞浸润及残留的肝细胞坏死团。低剂量霍山石斛水提取物组:没有发现严重的脂肪变,但是与模型组一样出现肝中央静脉

周围肝细胞索排列紊乱,肝血窦变窄,有大量的炎细胞浸润及残留的肝细胞坏死团。中剂量霍山石斛水提取物组:没有出现脂肪变现象;虽然肝中央静脉周围肝细胞索排列紊乱,肝血窦变窄,有少量的炎细胞浸润及残留的肝细胞坏死团,但是与模型组比较,肝损伤程度明显减轻。高剂量霍山石斛水提取物组:无脂肪变,肝小叶结构清晰,肝细胞结构清晰,浆丰核大,基本无脂肪空泡,也没有大量炎细胞浸润及残留的肝细胞坏死团。结果显示霍山石斛水提取物对肝细胞形态改变有保护作用,并且存在着剂量依赖关系。

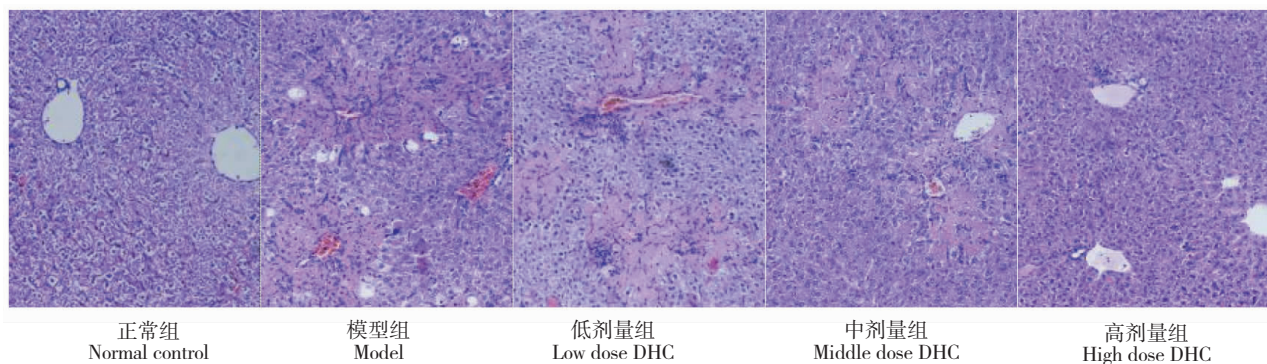


图1 霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠肝组织学改变的影响(HE, $\times 100$)

Fig. 1 Effect of DHC water extract on the histopathology of liver tissue(HE, $\times 100$)

3.5 霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠肝组织中氧化和炎症相关蛋白的影响

通过以上实验结果,可以发现高剂量的霍山石斛水提取物对肝脏的保护作用最佳,故选用高剂量组进行下一步研究。为了进一步了解霍山石斛水提取物减轻酒精性肝损伤的作用机制,我们通过 Western blot 检测了小鼠肝脏组织中 NF- κ B/p65 (p65) 和 p38 MAPK (p38) 的磷酸化水平。如图2所示,与正常组相比较,模型组中的 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 的磷酸化水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,高剂量的霍山石斛水提取物可以显著降低

NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 的磷酸化水平 ($P < 0.01$)。

4 讨论与结论

如以上所述,霍山石斛水提取物可以减小酒精性肝损伤,抑制了由于酒精性肝损伤诱导的 MDA 含量增加和 SOD 活性减小,减轻损伤引起的氧化胁迫。同时还减少了酒精性肝损伤诱导的炎细胞浸润。因此,霍山石斛水提取物的肝脏保护作用可能是由于它的抗氧化作用和抗炎活性。

肝脏在受到酒精刺激后,会发生氧化应激,引发

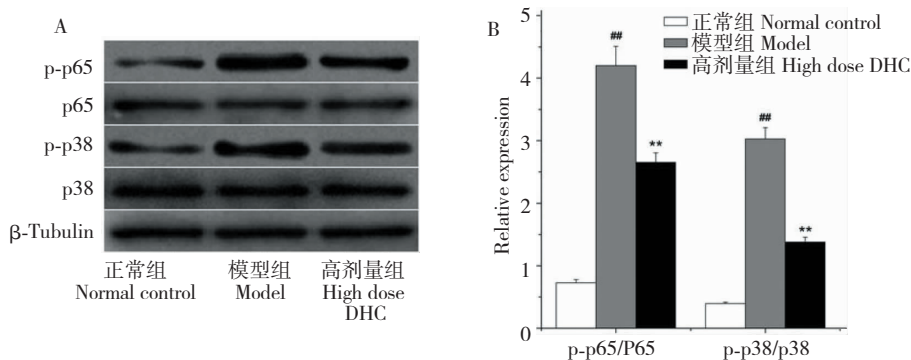


图2 霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤小鼠肝脏组织中 NF- κ B/p65 (p65) 和 p38 MAPK (p38) 的磷酸化水平的影响
Fig. 2 Effect of DHC water extract on the total and phosphorylated NF- κ B/p65 (p65) and p38 MAPK (p38) expressions in liver tissue by Western blot assay

注:与正常组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$;与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: # $P < 0.05$ and ## $P < 0.01$, compared to the normal control group; * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ compared to the model group.

一系列活性氧簇,活性氧能攻击生物膜磷脂中的多聚不饱和脂肪酸,形成脂质过氧化物^[7]。脂质过氧化物可以分解成多种产物,其中产生的以 MDA 为代表的醛类具有毒性,可与蛋白质、核酸、脑磷脂等含氨基化合物反应,破坏其功能^[8]。机体主要通过抗氧化酶(如 SOD)来防止自由基损伤^[9]。本研究发现霍山石斛能升高血清 SOD 水平,降低血清 MDA 水平,改善肝功能指标(ALT、AST),说明其抗氧化能力在这一过程中表现明显。本研究表明,连续 40 d 酒精灌胃后,小鼠血清中 SOD 活性显著降低,MDA 活性明显增高,并且 AST 和 ALT 含量也显著增加,通过 HE 染色也发现,肝脏有明显的损伤。研究也表明,霍山石斛水提取物可以显著的升高血清中 SOD 的活性,降低 MDA、AST 和 ALT 的水平,并且显著的减轻肝脏的损伤,对肝脏具有显著的保护作用。这表明霍山石斛可能通过其抗氧化作用发挥保护肝脏的作用。

也有研究表明,酒精肝损伤与炎症有关联^[10,11],在酒精肝损伤小鼠的血清中发现相关的炎症因子指标升高,如 TNF- α 。本研究发现,连续 40 d 酒精灌胃后,小鼠血清中 TNF- α 和 CRP 的活性显著增高,并且在 HE 染色中,也可以清楚的看到血管周围大量的炎细胞浸润,这表明,酒精肝损伤机制可能与炎症反应有关联。有趣的是,本研究也发现,霍山石斛水提取物可以显著的降低炎症因子的水平,也显著的降低血管周围的炎细胞浸润。这一结果表明,酒精肝损伤机制可能与炎症有关,而且霍山石斛水提取物可能通过其抗炎作用发挥保护肝脏的作

用。

在肝损伤的发展过程中涉及到很多细胞信号通路,如 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK^[12,13]。NF- κ B/p65 是细胞中重要的转录调节因子,通过刺激因子(病毒、肿瘤坏死因子、B 细胞活化因子、淋巴毒素等)的活化进而诱导多种基因的表达,产生多种细胞因子参与炎症反应^[14,15]。有研究表明,肝损伤的过程中,NF- κ B/p65 被诱导磷酸化,增加肝脏细胞释放大量的炎症因子,造成肝脏炎症损伤^[16]。知 p38 是 MAPK 的家族成员之一,p38 MAPK 信号通路炎症反应和氧化应激密切相关^[17]。很多研究表明,在肝损伤的过程中,p38 MAPK 的磷酸化水平显著增加,诱导严重的氧化损伤和炎症损伤^[18,19]。也有很多研究表明,抑制 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 的激活可以显著减轻肝损伤^[20,21]。在本研究中,我们发现,连续 40 d 酒精灌胃后,小鼠肝脏组织中的 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 的磷酸化水平显著升高,而且通过检测血清中氧化指标和炎症因子,我们也发现此时的氧化应激程度和炎症反应也都显著性升高。有趣的是,通过霍山石斛水提取物的治疗可以显著性逆转 40 d 酒精灌胃诱导的这些变化,主要表现为降低组织中的 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 的磷酸化水平,减轻炎症反应和氧化应激。这些结果均表明,霍山石斛水提取物的护肝作用机制可能是通过抑制 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 的磷酸化,减轻炎症反应和氧化损伤。

综上所述,霍山石斛具有很好的抗氧化能力和抗炎作用,能有效预防酒精性肝损伤的发生,其作用

机制可能与介导 NF- κ B/p65 和 p38 MAPK 信号通路有关。本研究主要研究了霍山石斛水提取物对酒精性肝损伤的保护作用及其作用机制,为其临床应用提供了部分理论基础。

参考文献

- Stickel F, Hampe J. Genetic determinants of alcoholic liver disease. *Gut*, 2012, 61: 150-159.
- Dongiovanni P, Romeo S, Valenti L. Hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver: role of environmental and genetic factors. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 12945-12955.
- Lv GY (吕圭源), Yan MQ (颜美秋), Chen SH (陈素红). Review of pharmacological activities of *Dendrobium officinale* based on traditional functions. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2013, 38: 489-493.
- Nie SP (聂少平), Cai HL (蔡海兰). Research progress in bioactive components and functions of *Dendrobium officinale*. *Food Sci* (食品科学), 2012, 23: 356-361.
- Miao L (苗亮), Liu YH (刘永红), Hua L (华蕾), et al. Role of *Flos puerariae* alcohol extract in a mouse model of alcoholism research. *Chin Med Biotechnol* (中国医药生物技术), 2009, 4: 262-265.
- Ren D, Hu Y, Luo Y, et al. Selenium-containing polysaccharides from Ziyang green tea ameliorate high-fructose diet induced insulin resistance and hepatic oxidative stress in mice. *Food Funct*, 2015, 6: 3342-3350.
- Chen YY, Lee PC, Wu YL, et al. *In vivo* effects of free form astaxanthin powder on anti-oxidation and lipid metabolism with high-cholesterol diet. *PLoS One*, 2015, 10: 1-16.
- Shan W, Gao L, Zeng W, et al. Activation of the SIRT1/p66shc antiapoptosis pathway via carnosic acid-induced inhibition of miR-34a protects rats against nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1833.
- Ali MH, Messiha BA, Abdel-Latif HA. Protective effect of ursodeoxycholic acid, resveratrol, and N-acetylcysteine on non-alcoholic fatty liver disease in rats. *Pharm Biol*, 2016, 54: 1198-1208.
- Abenavoli L, Luigiano C, Guzzi PH, et al. Serum adipokine levels in overweight patients and their relationship with non-alcoholic fatty liver disease. *Panminerva Med*, 2014, 56: 189-193.
- Rosmorduc O, Fartoux L. HCC and NASH: how strong is the clinical demonstration. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2012, 36: 202-208.
- Teng H, Chen M, Zou A, et al. Hepatoprotective effects of licochalcone B on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in mice. *Iran J Basic Med Sci*, 2016, 19: 910-915.
- Zhong W, Qian K, Xiong J, et al. Curcumin alleviates lipopolysaccharide induced sepsis and liver failure by suppression of oxidative stress-related inflammation via PI3K/AKT and NF- κ B related signaling. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83: 302-313.
- Zhu S, Hu X, Tao Y, et al. Strontium inhibits titanium particle-induced osteoclast activation and chronic inflammation via suppression of NF- κ B pathway. *Sci Rep*, 2016, 6: 36251.
- Li Y, Ding X, Fan P, et al. Inactivation of p27kip1 Promoted Nonspecific Inflammation by Enhancing Macrophage Proliferation in Islet Transplantation. *Endocrinology*, 2016, 157: 4121-4132.
- Penas FN, Cevey áC, Siffo S, et al. Hepatic injury associated with *Trypanosoma cruzi* infection is attenuated by treatment with 15-deoxy- Δ 12, 14 prostaglandin J2. *Exp Parasitol*, 2016, 170: 100-108.
- Jeong YH, Park JS, Kim DH, et al. Lonchocarpine Increases Nrf2/ARE-Mediated Antioxidant Enzyme Expression by Modulating AMPK and MAPK Signaling in Brain Astrocytes. *Biomol Ther (Seoul)*, 2016, 24: 581-588.
- Liu CM, Ma JQ, Xie WR, et al. Quercetin protects mouse liver against nickel-induced DNA methylation and inflammation associated with the Nrf2/HO-1 and p38/STAT1/NF- κ B pathway. *Food Chem Toxicol*, 2015, 82: 19-26.
- Zhao M, Chen J, Zhu P, et al. Dihydroquercetin (DHQ) ameliorated concanavalin A-induced mouse experimental fulminant hepatitis and enhanced HO-1 expression through MAPK/Nrf2 antioxidant pathway in RAW cells. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28: 938-944.
- Bak J, Je NK, Chung HY, et al. Oligonol Ameliorates CCl₄-Induced Liver Injury in Rats via the NF-Kappa B and MAPK Signaling Pathways. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 3935841.
- Cheong KO, Shin DS, Bak J, et al. Hepatoprotective effects of zingerone on carbon tetrachloride- and dimethylnitrosamine-induced liver injuries in rats. *Arch Pharm Res*, 2016, 39: 279-291.