

# 过墙风总黄酮对四氯化碳致急性肝损伤小鼠的保护作用及机制研究

黄思茂<sup>1</sup>,高雅<sup>1</sup>,曹后康<sup>1</sup>,蒯博婷<sup>1</sup>,王刚<sup>1</sup>,马冬梅<sup>1</sup>,张可锋<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>桂林医学院药学院,桂林 541004;<sup>2</sup>甘肃中医药大学药学院,兰州 730000

**摘要:**探讨过墙风总黄酮(CPTF)对四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)致急性肝损伤小鼠的保护作用及作用机制。将60只小鼠随机分为正常组、模型组、水飞蓟素组(150 mg/kg)、CPTF高、中、低剂量组(200、100、50 mg/kg),每组10只。各给药组每天灌胃对应剂量的药物(25 mL/kg),正常组与模型组每天灌胃等体积蒸馏水,连续灌胃10 d。末次给药2 h后,除正常组腹腔注射花生油外,其余各组均腹腔注射0.1%的CCl<sub>4</sub>花生油溶液(10 mL/kg)。禁食不禁水16 h后,眼球取血,处死后收集肝脏。生化法检测血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的含量,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白介素-1β(IL-1β)和白介素-6(IL-6)在肝组织中的含量。蛋白免疫印迹实验(Western blot)检测肝组织中酪氨酸蛋白激酶2(JAK2)、磷酸化JAK2(p-JAK2)、信号转导和转录激活因子3(STAT3)和磷酸化STAT3(p-STAT3)含量,HE染色观察肝组织病理学变化。结果显示,与模型组比较,CPTF可显著改善肝组织病变,降低血清中AST、ALT和MDA含量( $P < 0.05$ ),提高T-SOD和GSH-PX活性( $P < 0.05$ ),下调肝组织中TNF-α、IL-1β和IL-6表达( $P < 0.05$ ),并抑制p-JAK2和p-STAT3水平( $P < 0.05$ )。综上所述,CPTF对CCl<sub>4</sub>致急性肝损伤小鼠具有保护作用,可减轻肝组织损伤程度,其作用机制可能与抗氧化、抑制炎症反应,并调控JAK2/STAT3信号通路有关。

**关键词:**过墙风;总黄酮;四氯化碳;急性肝损伤;氧化应激;炎症反应;JAK2/STAT3信号通路

中图分类号:Q939.9

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.2.007

## Protective Effects and Functional Mechanism of *Clerodendrum philippinum* Schauer var. *simplex* Mlodenke Total Flavonoids on Acute Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Mice

HUANG Si-mao<sup>1</sup>, GAO Ya<sup>1</sup>, CAO Hou-kang<sup>1</sup>, XI Bo-ting<sup>1</sup>, WANG Gang<sup>1</sup>, MA Dong-mei<sup>1</sup>, ZHANG Ke-feng<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541004, China; <sup>2</sup>College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

**Abstract:** To explore the protective effects and its mechanism of *Clerodendrum philippinum* Schauer var. *simplex* Mlodenke total flavonoids (CPTF) on acute liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) in mice. 60 mice were randomly divided into normal group, model group, silymarin group (150 mg/kg), CPTF-high, medium and low dose group (200, 100, 50 mg/kg). The normal group and model group were given equivoluminal distilled water, and other groups were given the corresponding dose of drugs (25 mL/kg) for 10 days. After 2 h of the last administration, the mice of all groups except the normal group were injected intraperitoneally with 0.1% CCl<sub>4</sub> peanut oil solution (10 mL/kg). 16 h later, the blood was taken by removing eye balls, and the liver tissue was collected after killing the mice. The serum contents of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total superoxide dismutase (T-SOD), malondialdehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GSH-Px) were measured by biochemical method; the levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β) and interleukin-6 (IL-6) in liver tissue were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); janus kinase 2 (JAK2), phosphorylated JAK2 (p-JAK2), signal transducer and

activator of transcription 3 (STAT3) and phosphorylated STAT3 (p-STAT3) in liver tissue were detected by Western blot; the histopathological changes of liver were observed by HE staining. The results showed that CPTF could significantly

收稿日期:2017-09-20 接受日期:2017-11-23

基金项目:广西八桂学者专项(2017-143)

\*通信作者 Tel:86-013457684046; E-mail: xueshengcailliao@163.com

improve the liver tissue lesion, decrease the levels of AST, ALT and MDA in serum ( $P < 0.05$ ), enhance the activity of T-SOD and GSH-Px ( $P < 0.05$ ), inhibit the hepatic levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 ( $P < 0.05$ ), and inhibit the expression of p-JAK2 and p-STAT3 ( $P < 0.05$ ). In summary, CPTF had a protective effect on CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury in mice, which could reduce the degree of liver injury, and its mechanism may be related to anti-oxidation, inhibition of inflammation and regulation of JAK2/STAT3 signaling pathway.

**Key words:** *Clerodendrum philippinum* Schauer var. *simplex* Mlodenke; total flavonoids; carbon tetrachloride; acute liver injury; oxidative stress; inflammatory response; JAK2/STAT3 signaling pathway

过墙风为马鞭草科大青属植物臭茉莉 (*Clerodendrum philippinum* Schauer var. *simplex* Mlodenke) 的干燥根或全株, 别名臭芙蓉、臭屎茉莉等, 具有活血止痛、清热解毒等功效, 含黄酮类、萜类、皂苷等化学成分, 主治跌打损伤、支气管炎、黄疸型肝炎等<sup>[1-3]</sup>。黄酮类化合物是一类具有多种生物学活性的天然产物, 具有抗炎、抗氧化、清除自由基等药理活性, 在防治肝脏疾病等方面发挥着重要的作用<sup>[4]</sup>。因此, 本研究采用四氯化碳 (CCl<sub>4</sub>) 建立小鼠急性肝损伤模型, 观察过墙风总黄酮 (*Clerodendrum philippinum* Schauer var. *simplex* Mlodenke total flavonoids, CPTF) 的保肝作用, 并从抗炎、抗氧化方面探讨作用机制。

## 1 材料与试剂

### 1.1 试验药物

过墙风购自于桂林市七星区六合路药材市场, 经桂林医学院药物研究所张可锋副教授鉴定为臭茉莉 (*Clerodendrum philippinum* Schauer var. *simplex* Mlodenke) 的干燥根。称取 2 kg 过墙风生药粉碎, 过 80 目筛, 75% 乙醇回流提取 2 次, 料液比 1:10 (g:mL), 每次 1.5 h, 合并提取液, 过滤, 减压蒸馏, 浓缩得过墙风总黄酮浸膏, 加蒸馏水混匀后, 盐酸调 pH 值为 5; D101 型大孔吸附树脂进行纯化, 上样流速为 4 mL/min, 然后静置 12 h, 先后用 3 倍树脂体积的 30% 乙醇和 4 倍体积的 70% 乙醇洗脱, 流速 3 mL/min, 将 70% 乙醇洗脱液收集并浓缩至浸膏, 再经冷冻干燥<sup>[5]</sup>, 得总黄酮 37.15 g, 提取率为 1.86%, 采用经典的亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠比色法测得其纯度为 80.21%。

### 1.2 动物

昆明种 SPF 级小鼠 60 只, 体重 18~22 g, 雌雄各半, 由桂林医学院 SPF 实验动物中心提供, 许可证号: SCXK 桂 2007-0001。

### 1.3 试剂

分析纯 CCl<sub>4</sub> (广东汕头市陇化工厂, 批号:

0710262), 水飞蓟素 (浙江万邦药业有限公司), 谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和丙二醛 (MDA) 试剂盒均购于南京建成生物工程研究所; 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和白介素-6 (IL-6) ELISA 试剂盒 (武汉伊莱瑞特生物科技有限公司); 酪氨酸蛋白激酶 2 (JAK2)、磷酸化 JAK2 (p-JAK2)、信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 和磷酸化 STAT3 (p-STAT3) 抗体购自英国 Abcam 公司, 其它试剂均为国产分析纯。

### 1.4 仪器

TGL-16K 台式高速冷冻离心机 (湖南湘仪离心机厂), AU600 全自动生化检测仪 (奥林巴斯生产), 恒温水浴锅 XMTD-600 (上海长风仪器厂), THZ-C-1 台式冷冻恒温振荡器 (太仓市实验设备厂), Eppendorf 移液器 (德国 eppendorf 股份公司), Epoch 酶标仪 (美国 Bio-tek)。

## 2 方法

### 2.1 分组与处理

60 只小鼠被随机均分为正常组 (Normal group)、模型组 (Model group)、水飞蓟素组 (Silymarin group, 150 mg/kg)、CPTF 高、中、低剂量组 (CPTF-high, medium, low dose group, 200、100、50 mg/kg), 每组 10 只。水飞蓟素组和 CPTF 各剂量组小鼠每天灌胃对应剂量的药物 (25 mL/kg), 正常组与模型组每天灌胃等体积蒸馏水, 连续灌胃 10 d。末次给药 2 h 后, 除正常组腹腔注射等体积花生油溶液外, 其余各组均腹腔注射 0.1% 的 CCl<sub>4</sub> 花生油溶液 (10 mL/kg)。禁食不禁水 16 h 后, 眼球取血, 4℃、4500 rpm 离心 15 min, 取上层血清保存待用; 取左叶置于 4% 多聚甲醛中固定, 用于肝组织病理切片, 另取肝右叶于液氮中保存, 用于蛋白检测。

### 2.2 血清转氨酶活性检测

按照试剂盒说明书, 检测血清中 ALT 和 AST 活性。

### 2.3 血清氧化应激指标检测

采用 T-SOD、MDA 和 GSH-Px 试剂盒检测血清中 T-SOD、MDA 和 GSH-Px 含量。

### 2.4 肝组织炎症因子检测

在肝右叶固定位置取适量肝组织,加入生理盐水后充分研磨,制备 10% 肝组织匀浆,离心后取上清,按照 ELISA 试剂盒说明书检测肝组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 含量。

### 2.5 蛋白免疫印迹实验(Western blot)

在肝右叶相同位置称取肝组织 50 mg 左右,加入 RIPA 组织裂解液后匀浆,充分裂解后离心取上清液,采用 BCA 试剂盒进行蛋白含量测定,根据计算结果,加入蛋白上样缓冲液,进行蛋白定量,水浴热变性后于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。配制浓度 10% 的分离胶和 5% 的浓缩胶,每孔加入 10  $\mu\text{L}$  样品,80 V 恒压电泳,当指示剂至浓缩胶与分离胶交界处时,转为 110 V 恒压电泳。电泳结束后,冰浴条件下 180 mA 恒流转 PVDF 膜 1.5 h,然后封闭 2 h, TBST 洗涤 3 次,每次 5 min,4  $^{\circ}\text{C}$  一抗(1:500)孵育过夜;第二天拿出,洗涤后加二抗(1:5000)室温孵育 2 h,再次洗涤后,采用 ECL 化学发光法显色,胶片曝光,显影、定影后,扫描胶片,采用 Quantity One 软件计算蛋白灰度,计算目的蛋白与对应内参的比值,再与正常组

比较计算出蛋白相对表达量。

### 2.6 肝组织病理学检查

取血后处死小鼠,取肝左叶下缘小块组织,置于 4% 多聚甲醛甲醛中固定,依次脱水透明、浸蜡包埋、切片贴片、脱蜡染色、脱水透明、封固,于光镜下观察肝组织病理学变化。

### 2.7 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行统计,数据以平均值  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本  $t$  检验, $P < 0.05$  说明数据有统计学差异。

## 3 结果与分析

### 3.1 CPTF 对血清 ALT 和 AST 活性的影响

为明确 CPTF 对肝脏的保护作用,本研究首先对血清肝功能指标 ALT 和 AST 活性进行了检测。与正常组比较,模型组小鼠血清中 AST 和 ALT 活性明显升高( $P < 0.01$ ),表明成功建立急性肝损伤小鼠模型;与模型组相比,水飞蓟素和 CPTF 可显著降低血清中 ALT 和 AST 活性( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),差异具有统计学意义,提示 CPTF 具有一定的保肝作用,结果见表 1。

表 1 CPTF 对血清 ALT 和 AST 的影响( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )  
Table 1 Effect on the serum ALT and AST of CPTF ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)
正常 Normal	-	73.85 $\pm$ 14.39	37.68 $\pm$ 6.21
模型 Model	-	1107.56 $\pm$ 146.95 <sup>##</sup>	254.25 $\pm$ 32.07 <sup>##</sup>
水飞蓟素 Silymarin	150	506.35 $\pm$ 54.46 <sup>**</sup>	217.61 $\pm$ 25.53 <sup>*</sup>
CPTF 高剂量 CPTF-high	200	479.91 $\pm$ 46.14 <sup>**</sup>	200.54 $\pm$ 22.14 <sup>**</sup>
CPTF 中剂量 CPTF-medium	100	516.12 $\pm$ 44.43 <sup>**</sup>	224.64 $\pm$ 21.56 <sup>*</sup>
CPTF 低剂量 CPTF-low	50	600.09 $\pm$ 74.04 <sup>**</sup>	240.35 $\pm$ 23.35

注:与正常组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

Note:Compared with Normal group,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;compared with Model group,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ .

### 3.2 CPTF 对血清 T-SOD、GSH-Px 和 MDA 的影响

为探讨 CPTF 的保肝作用机制,本研究从氧化应激方面进行了研究。与正常组比较,模型组小鼠血清中 T-SOD、GSH-Px 活性显著降低( $P < 0.01$ ),且 MDA 含量显著升高( $P < 0.01$ ),表明  $\text{CCl}_4$  诱导小鼠急性肝损伤的机制与氧化应激作用有关;与模型组相比,水飞蓟素和 CPTF 可显著提高血清中 T-

SOD 和 GSH-Px 活性,并降低 MDA 含量( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),差异具有统计学意义,提示 CPTF 可能通过抗氧化作用起到保肝的作用,结果见表 2。

### 3.3 CPTF 对肝组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和 IL-6 的影响

本研究通过检测各组小鼠肝组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 含量表达,从炎症反应方面探讨 CPTF 对急性肝损伤小鼠的保护作用机制。与正常组比较,

模型组小鼠肝脏中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 含量显著升高( $P < 0.01$ ),表明炎症反应可能为 CCl<sub>4</sub> 诱导

表 2 CPTF 对血清 T-SOD、GSH-Px 和 MDA 的影响( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

Table 2 Effect on the serum T-SOD、GSH-Px 和 MDA of CPTF ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	T-SOD (U/mL)	GSH-PX (U/mL)	MDA (nmol/mL)
正常 Normal	-	245.01 $\pm$ 16.75	277.14 $\pm$ 33.12	3.05 $\pm$ 0.25
模型 Model	-	137.41 $\pm$ 17.44 <sup>##</sup>	172.38 $\pm$ 20.34 <sup>##</sup>	7.43 $\pm$ 0.66 <sup>##</sup>
水飞蓟素 Silymarin	150	178.65 $\pm$ 21.05 <sup>**</sup>	210.79 $\pm$ 22.46 <sup>**</sup>	6.39 $\pm$ 0.52 <sup>**</sup>
CPTF 高剂量 CPTF-high	200	186.87 $\pm$ 14.83 <sup>**</sup>	237.46 $\pm$ 28.68 <sup>**</sup>	6.5 $\pm$ 0.49 <sup>**</sup>
CPTF 中剂量 CPTF-medium	100	176.25 $\pm$ 16.98 <sup>**</sup>	213.9 $\pm$ 18.79 <sup>**</sup>	6.81 $\pm$ 0.51 <sup>*</sup>
CPTF 低剂量 CPTF-low	50	155.36 $\pm$ 16.32 <sup>*</sup>	180.36 $\pm$ 18.89	7.44 $\pm$ 0.71

注:与正常组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

Note:Compared with Normal group,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;compared with Model group,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ .

肝损伤的机制之一;与模型组比较,水飞蓟素和 CPTF 可显著抑制肝组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的释放( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),减轻炎症反应,提示 CPTF 的保肝作用可能与抑制炎症反应有关,结果见表 3。

表 3 CPTF 对肝组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的影响( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effect on the hepatic TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  and IL-6 of CPTF ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	TNF- $\alpha$ ng/mg	IL-1 $\beta$ pg/mg	IL-6 pg/mg
正常 Normal	-	7.84 $\pm$ 1.86	5.56 $\pm$ 1.34	10.43 $\pm$ 0.16
模型 Model	-	28.34 $\pm$ 3.93 <sup>##</sup>	11.11 $\pm$ 2.51 <sup>##</sup>	26.79 $\pm$ 3.32 <sup>##</sup>
水飞蓟素 Silymarin	150	13.24 $\pm$ 2.14 <sup>**</sup>	6.78 $\pm$ 1.57 <sup>**</sup>	14.00 $\pm$ 1.62 <sup>**</sup>
CPTF 高剂量 CPTF-high	200	12.18 $\pm$ 2.08 <sup>**</sup>	7.76 $\pm$ 1.65 <sup>**</sup>	15.88 $\pm$ 1.98 <sup>**</sup>
CPTF 中剂量 CPTF-medium	100	15.43 $\pm$ 2.51 <sup>**</sup>	8.21 $\pm$ 1.87 <sup>**</sup>	18.34 $\pm$ 2.02 <sup>**</sup>
CPTF 低剂量 CPTF-low	50	19.76 $\pm$ 2.94 <sup>*</sup>	10.26 $\pm$ 2.02	22.46 $\pm$ 2.54 <sup>*</sup>

注:与正常组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

Note:Compared with Normal group,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;compared with Model group,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ .

### 3.4 CPTF 对小鼠肝组织病理形态的影响

显微观察发现,正常组(图 1 A)小鼠肝小叶结

构完整,肝细胞索排列整齐,细胞核居中,细胞界限清晰,无炎性细胞浸润、细胞坏死等病变。模型组

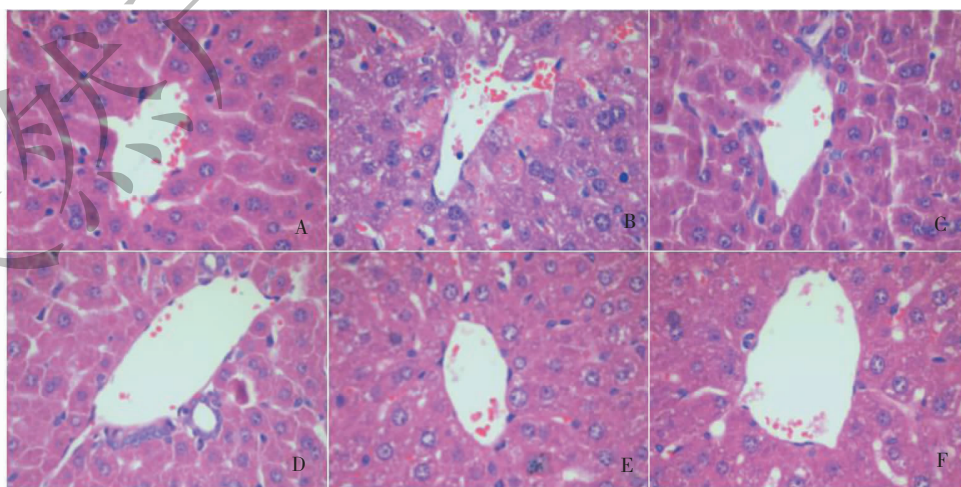


图 1 CPTF 对小鼠肝组织病理形态的影响

Fig. 1 Effect on the liver pathology conformation of CPTF

注:A:正常组;B:模型组;C:阳性组;D:CPTF 高剂量组;E:CPTF 中剂量组;F:CPTF 低剂量组

Note:A:Normal group;B:Model group;C:Silymarin group;D:CPTF-high dose group;E:CPTF-medium dose group;F:CPTF-low dose group

(图 1 B)小鼠汇管区或中央静脉周围肝细胞严重坏死,肝小叶结构难以辨认,细胞边界模糊,肝细胞索严重紊乱,并伴有炎性细胞浸润,表明  $\text{CCl}_4$  可引起肝组织病变。与模型组比较,水飞蓟素(图 1 C)和 CPTF(图 1 D-F)均可改善肝组织病变,并且随着 CPTF 剂量的增加,改善效果越明显,肝小叶和肝细胞索结构趋于完整,肝细胞索结构炎症细胞浸润和细胞坏死减轻,见图 1。

### 3.5 CPTF 对 JAK2-STAT3 信号通路的影响

与正常组比较,模型组 JAK2 和 STAT3 相对表达量无显著性差异( $P > 0.05$ ),而 p-JAK2 和 p-STAT3 相对表达水平显著升高( $P < 0.01$ ),表明 JAK2-STAT3 信号通路被激活;与模型组比较,水飞蓟素和 CPTF 高、中剂量组 JAK2 和 STAT3 相对表达量亦无显著性差异( $P > 0.05$ ),而 p-JAK2 和 p-STAT3 相对表达水平显著降低( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),提示 CPTF 可能通过调节 JAK2-STAT3 信号通路进而改善肝组织病变,结果见图 2。

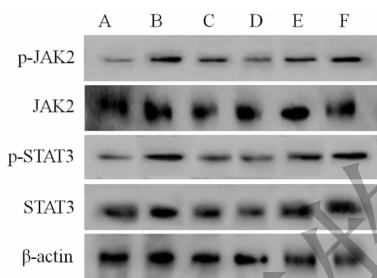


图 2 CPTF 对 JAK2-STAT3 信号通路的影响

Fig. 2 Effect on the JAK-STAT3 signal pathway of CPTF

注:与正常组比较,  $^{##}P < 0.01$ ;与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ;  $^{**}P < 0.01$ 。A:正常组;B:模型组;C:阳性组;D:CPTF 高剂量组;E:CPTF 中剂量组;F:CPTF 低剂量组

Note: Compared with Normal group,  $^{##}P < 0.01$ ; compared with Model group,  $^{*}P < 0.05$ ;  $^{**}P < 0.01$ . A: Normal group; B: Model group; C: Silymarin group; D: CPTF-high dose group; E: CPTF-medium dose group; F: CPTF-low dose group

## 4 讨论与结论

肝脏不仅具有代谢和排泄的生理功能,而且还是机体重要的解毒器官,肝脏在清除有害物质的同时也会造成自我损伤,导致肝脏清除排泄能力受到限制<sup>[6]</sup>。造成肝脏损伤的因素多种多样,其中包括化学性肝损伤、细菌和病毒引起的生物性肝损伤<sup>[7]</sup>。 $\text{CCl}_4$  作为一种经典的化学性肝毒剂,可造成肝细胞结构和功能受损,导致胞内 ALT 和 AST 溢出

进入血液,导致血液中 ALT 和 AST 活性升高,其升高水平与肝损伤程度呈正相关,因此 ALT 和 AST 活性常作为评价肝损伤程度的指标<sup>[8]</sup>。本研究结果表明,腹腔注射  $\text{CCl}_4$  后,血清中 ALT 和 AST 活性显著升高,并且发生肝组织病变,表明成功建立  $\text{CCl}_4$  诱导的急性肝损伤小鼠模型。经 CPTF 干预后,小鼠血清中 ALT 和 AST 活性显著降低,肝组织病变程度减轻,表明 CPTF 对  $\text{CCl}_4$  诱导的急性肝损伤小鼠具有保护作用。

$\text{CCl}_4$  可被肝脏代谢为自由基,并引发脂质过氧化反应,MDA 作为一种重要脂质过氧化产物,其和自由基均可攻击肝细胞,造成肝脏损伤<sup>[9]</sup>;SOD 和 GSH-Px 是体内重要的抗氧化酶,可清除有害的 MDA 和自由基,维持氧化和抗氧化系统动态平衡,从而保护肝细胞<sup>[10]</sup>。 $\text{CCl}_4$  代谢产物还可刺激肝脏中的炎症细胞,导致大量促炎因子被释放,并且激活炎症信号通路,加重肝脏炎症反应,诱发大量肝细胞死亡<sup>[11]</sup>。TNF- $\alpha$  具有多种生物学效应,不仅是炎症反应中关键的促炎因子,而且还能够刺激炎症细胞分泌大量炎症因子,加重炎症反应<sup>[12]</sup>;IL-1 $\beta$  作为重要的致炎因子,参与了免疫反应、炎症、发热等生理过程,可增加组织炎性细胞浸润,造成组织严重受损<sup>[13]</sup>;IL-6 与受体形成复合物后,可进一步激活细胞信号通路,加快肝纤维化、肝癌等病变进程<sup>[14]</sup>,在肝脏炎症反应和病变进程中,三者起到重要作用。本实验结果表明,CPTF 可降低 MDA 含量,提高 SOD 和 GSH-Px 活性,并抑制肝组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 表达,提示 CPTF 的保肝作用机制可能与抗氧化和抑制炎症反应有关。

JAK2 属于 JAK 蛋白家族,其可被体内多种细胞因子激活,继而与细胞核内以同源二聚体形式存在的转录活化子家族(STATs)中重要成员信号转导激活转录因子 3(STAT3)发生磷酸化反应相结合,形成 JAK2-STAT3 复合,进而调节肝脏内 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等炎症因子的表达,同时各种炎症因子正反馈作用于该通路,使 JAK2-STAT3 信号通路传导增强,导致炎症反应进一步扩大<sup>[15,16]</sup>。因此,抑制 JAK2-STAT3 信号通路对抑制炎症反应,减轻肝损伤至关重要。本研究显示, $\text{CCl}_4$  可使 p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白水平显著升高,表明 JAK2-STAT3 通路被激活,CPTF 干预可抑制该通路的激活,进而减轻炎症反应。综上所述,CPTF 对  $\text{CCl}_4$  致急性肝损伤小鼠具有保护作用,其作用机制可能与抗氧化、抑制

炎症反应,并调控 JAK2/STAT3 信号通路有关。

### 参考文献

- Na Z (纳智). Study on the chemical constituents of the essential oil from leaves of *Clerodendrum philippinum* var. *simplex*[J]. *Chin Wild Plant Res* (中国野生植物资源),2006,25(5):59-60.
- Wu MM (吴明美),Wang LQ (王利勤),Hua Y (华燕). Advances in chemical constituents and pharmacological effects of *Clerodendrum* plants[J]. *Chem Eng Equipment* (化学工程与装备),2011,(4):112-116.
- Zhu YK (朱耀魁),Hu Y (胡颖),Cheng N (程妮),*et al.* Study on the chemical constituents of *Clerodendron philippinum* var. *Simplex*[J]. *J Chin Med Mater* (中药材),2013,36(1):67-69.
- Zhang SL (张石蕾),You SP (由淑萍),Liu T (刘涛),*et al.* Preventive effects of total flavonoids from *Nymphaea candida* on CCl<sub>4</sub> induced acute liver injury in mice [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发),2016,28:2017-2020.
- Gao Y (高雅),Li H (李豪),Zhong ML (钟明利),*et al.* Study on the effect and mechanism of *Polygonum perfoliatum* total flavonoids on hepatic Fibrosis in the rats[J]. *West China J Pharm Sci* (华西药学杂志),2015,30:181-183.
- Wakiya T,Kudo D,Ishido K,*et al.* Effect of age on the development of chemotherapy-associated liver injury in colorectal cancer liver metastasis[J]. *Mol Clin Oncol*,2017,7:200-204.
- Balkan A,Yllmaz N,Balkan Y,*et al.* Relationship between liver injury and serum cytokeratin 18 levels in asymptomatic hepatitis B virus carriers and in patients with chronic hepatitis B infection [J]. *Arab J Gastroenterol*,2017,18(2):98-103.
- Nie Y, Ren D, Lu X,*et al.* Differential protective effects of polyphenol extracts from apple peels and flesh against acute CCl<sub>4</sub>-induced liver damage in mice [J]. *Food Funct*,2015,6(2):513-524.
- Chen M,Huang W,Wang C,*et al.* High-mobility group box 1 exacerbates CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury in mice[J]. *Clin Immunol*,2014,153(1):56-63.
- Ray S,Murmu N,Adhikari J,*et al.* Inhibition of Hep G2 hepatic cancer cell growth and CCl<sub>4</sub> induced liver cytotoxicity in Swiss albino mice by Mahua extract[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*,2014,33:295-314.
- Feng PW (冯培文),Han JC (韩吉春),Li DF (李德芳),*et al.* Hepatoprotective Effect of Corynoline on Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity in Mice [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发),2017,29:224-228.
- Pol JG,Lebaby B,Redelsperger F,*et al.* Alternative splicing-regulated protein of hepatitis B virus hacks the TNF- $\alpha$ -stimulated signaling pathways and limits the extent of liver inflammation[J]. *FASEB J*,2015,29:1879-1889.
- Alcaraz-Quiles J,Titos E,Casulleras M,*et al.* Polymorphisms in the IL-1 gene cluster influence systemic inflammation in patients at risk for acute-on-chronic liver failure[J]. *Hepatology*,2017,65:202-216.
- Ma B,Zhu J,Tan J,*et al.* Gpr110 deficiency decelerates carcinogen-induced hepatocarcinogenesis via activation of the IL-6/STAT3 pathway [J]. *Am J Cancer Res*,2017,7:433-447.
- Zhang H,Liu Y,Wang LK,*et al.* Pyrrolidine dithiocarbamate alleviates the anti-tuberculosis drug-induced liver injury through JAK2 / STAT3 signaling pathway: An experimental study[J]. *Asian Pac J Trop Med*,2017,10:520-523.
- Lee SC,Jeong HJ, Lee SK,*et al.* Hypoxic conditioned medium from human adipose-derived stem cells promotes mouse liver regeneration through JAK / STAT3 signaling[J]. *Stem Cells Transl Med*,2016,5:816-825.
- Iris tectorum* on nerve cells [D]. Taishan:Taishan Medical University (泰山医学院),2013.
- Zhang YY(张媛媛),Qing MJ(秦民坚),Shu P(束盼),*et al.* Study on HPLC fingerprint of Rhizoma Belamcandae [J]. *Pharm Clin Res* (药学与临床研究),2009,17(1):18-20.
- Qing MJ(秦民坚),Ji WL(吉文亮),Wang ZT(王峥涛),*et al.* The content change of 4 isoflavone in different harvesting stage of *Iris tectorum* [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物),2005,3:245-247.
- Pan J(潘静). Studies on the chemical constituents and anti-tumor activities of *Iris tectorum* Maxim [D]. Wuhan:Hubei College of Traditional Chinese Medicine (湖北中医学院),2009.
- Wang JF(王金凤),Bao BH(薄本华),Meng XY(孟祥颖),*et al.* Cardioprotective function of tectorigenin in acute myocardial infarction in mice [J]. *Chin J New Drugs Clin Remed* (中国新药与临床杂志),2010,29:99-103.
- Yu Y(于颖). Protective effect of isoflavones from Rhizomes

(上接第 260 页)