

七味净肝灵对酒精性肝损伤大鼠的保护作用研究

张可锋^{1,2}, 许琼梅¹, 曹后康¹, 陈春¹, 张帆¹, 李家妮¹, 晋玲^{2*}¹桂林医学院药学院, 桂林 541004; ²甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000

摘要:探讨七味净肝灵(QWJGL)对酒精性肝损伤大鼠的保护作用及作用机制。将60只大鼠随机分为正常组、模型组、水飞蓟宾组(0.18 g/kg)、QWJGL高、中、低剂量组(8, 4, 2 g/kg), 每组10只。造模采用灌胃56% vol 白酒(10 mL/kg), 2 h后, 各用药组灌胃给药, 持续给药30天。末次给药16 h后, 取血, 收集肝脏、脾脏和胰腺, 计算LI、SI和TI, 生化法测定血清ALT、AST、MDA、SOD和GSH-Px含量, ELISA法检测肝脏中IL-1 β 、IL-6和TNF- α 含量, Western blot检测肝组织NF- κ B和CD14表达, HE染色观察肝脏组织病理学变化。结果表明, QWJGL可降低酒精性肝损伤大鼠的LI($P < 0.05$), 提高SI和TI($P < 0.05$), 降低肝损伤大鼠血清中ALT和AST活性($P < 0.05$), 并且可以降低MDA含量($P < 0.05$), 增强SOD和GSH-Px活性($P < 0.05$), 降低TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平($P < 0.05$), 抑制肝组织NF- κ B和CD14表达($P < 0.05$)。综上, QWJGL对酒精性肝损伤有明显的保护作用, 其保肝作用可能与抑制氧化应激、炎症反应和调控CD14、NF- κ B蛋白表达有关。

关键词:七味净肝灵; 酒精性肝损伤; 氧化应激; 炎症反应; 白细胞分化抗原14; 核转录因子- κ B

中图分类号: R285

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.8.004

Protection Effects of Qi Wei Jing Gan Ling on Alcoholic Liver Injury in Rats

ZHANG Ke-feng^{1,2}, XU Qiong-mei¹, CAO Hou-kang¹, CHEN Chun¹, ZHANG Fan¹, LI Jia-ni¹, JIN Ling^{2*}¹College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541004, China; ²College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: To explore the protective effect and mechanism of Qi Wei Jing Gan Ling (QWJGL) on alcoholic liver injury in rats. 60 rats were randomly divided into normal group, model group, silymarin group (0.18 g/kg), QWJGL high, medium and low dose group (8, 4, 2 g/kg), with 10 rats in each group. These groups were given by gavage once a day with 56% vol alcohol at a dose of 10 mL/kg per day, except normal group with distilled water. After 2 h, each drug group were given by gavage for 30 days with QWJGL, normal group and model group to give equal volume distilled water by gavage. After the last intragastric administration fasting for solids and liquids 24 h, reagent kits of ALT, AST, SOD, MDA and GSH-Px were employed for biochemical detection of serum, which isolated from blood sampled by eyeball extirpating. Taking out the liver, spleen and pancreas, and calculate LI, SI and TI. Serum IL-1 β , IL-6 and TNF- α were detected by ELISA. CD14 and NF- κ B protein levels in rat liver tissues were detected by Western blot. The histopathological changes of liver were observed by HE staining. The results showed that QWJGL reduced the LI of rats with alcoholic liver injury and improved SI and TI ($P < 0.05$). The activity of ALT, AST and the content of MDA were reduced ($P < 0.05$), the activity of SOD and GSH-Px was increased ($P < 0.05$), and the level of TNF- α , IL-6 and IL-1 β were reduced ($P < 0.05$). And QWJGL could also inhibit the expression of NF- κ B protein and CD14 receptor in liver tissue ($P < 0.05$). It can be seen that the QWJGL has a significant protective effect on alcoholic liver injury, and its protective effect may be related to the inhibition of oxidative stress, inflammatory response, CD14 and NF- κ B expressions.

Key words: Qi Wei Jing Gan Ling (QWJGL); alcoholic liver injury; oxidative stress; inflammatory response; cluster of differentiation antigen 14; nuclear factor- κ B

七味净肝灵(QWJGL)由牛大力、黑老虎、叶下

珠、地耳草、白花蛇舌草、甘草和虫牙药构成, 具有清热润肺、疏肝健脾、平肝清热、保肝解毒等功效, 是民间防治肝炎的传统复方制剂^[1]。前期研究发现, QWJGL对四氯化碳或卡介苗联合脂多糖诱导的肝损伤有明显的改善作用, 能抑制炎症细胞因子的产

收稿日期: 2018-02-27 接受日期: 2018-05-08

基金项目: 广西八桂学者专项(桂财教函[2017]143号)

* 通信作者 E-mail: svdy@163.com

生^[1,2]。在世界范围内,酒精性肝损伤相关疾病逐年上升,其损伤机制涉及肝线粒体损伤、氧化应激、炎症反应等^[3]。水飞蓟宾是一种天然的保肝化合物,能够清除酒精、四氯化碳等有毒物质产生的自由基,并增强肝组织抗氧化能力,降低炎症反应等,在多种肝损伤模型中,可作为阳性药用于筛选保肝药物,但水飞蓟宾口服吸收差、生物利用度低,故其临床疗效受到限制^[4]。本实验通过建立大鼠酒精性肝损伤模型,研究 QWJGL 保护肝脏的作用及机制,为 QWJGL 用于临床治疗肝损伤提供依据。

1 材料与试剂

1.1 试验药物

QWJGL:分别称取 300 g 牛大力、200 g 黑老虎、150 g 地耳草、200 g 叶下珠、150 g 虫牙草、150 g 白花蛇舌草、150 g 甘草,地耳草、牛大力、甘草和白花蛇舌草采用水提,叶下珠、黑老虎和虫牙草用 75% 酒精提取,将各提取物混合,冷冻干燥得 QWJGL 提取物^[1]。

1.2 动物

健康 SPF 级大鼠 60 只,8~10 周龄,体重 180~200 g,雌雄各半,由桂林医学院 SPF 实验动物中心提供,许可证号(桂)SCXK2007-0001。

1.3 试剂

56% vol 白酒(京泰酒业有限公司),水飞蓟宾(浙江万邦药业有限公司),谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物工程研究所);白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)试剂盒(武汉伊莱瑞特公司);RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(南通市碧云天生物技术研究);PVDF 膜(Bio-Rad 公司,美国),兔抗白细胞分化抗原 14(CD14)单抗、兔抗核转录因子- κ B(NF- κ B)单抗(CST 公司,美国),鼠抗 β -actin 单抗(天锡傲锐东源生物科技有限公司),辣根酶标记的二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司),Super ECL Plus 超敏发光液(北京普利莱基因科技有限公司)。

1.4 仪器

Epoch 酶标仪(Bio-Tek 公司,美国),UW-2200H 电子天平(岛津公司,日本),TGL-16K 台式高速冷冻离心机(湖南湘仪离心机厂),R-200 型旋转蒸发器(Buchi 公司,瑞士),OLYMPUS BX51 显微镜(奥

林巴斯公司,日本),全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组与处理

60 只大鼠随机分为正常组(Normal group)、模型组(Model group)、水飞蓟宾组(Silymarin group, 0.18 g/kg)、QWJGL 高、中、低剂量组(QWJGL high, medium, low dose group, 8、4、2 g/kg, 生药量),每组 10 只。除正常组给予蒸馏水外,其余各组均用 56% vol 白酒按 10 mL/kg 灌胃,每天 1 次,灌胃 2 h 后,各用药组灌胃给药,正常组和模型组给予等体积蒸馏水灌胃,每天 1 次,持续给药 30 天。在末次灌胃结束后,禁食不禁水 16 h,摘取眼球取血,收集肝脏、脾脏和胰腺。血样离心 15 min(4 500 rpm),-20 $^{\circ}$ C 保存血清,按检测试剂盒要求检测血清中 ALT、AST、MDA、SOD 以及 GSH-Px 含量。称量肝脏、脾脏及胸腺,分别计算肝脏指数 LI(%) = 肝脏湿重(g)/体重(g) \times 100%、脾脏指数 SI(%) = 脾脏湿重(g)/体重(g) \times 100% 以及胸腺指数 TI(%) = 胸腺湿重(g)/体重(g) \times 100%,并将各组大鼠肝左叶用 4% 多聚甲醛固定,常规石蜡包埋切片,HE 染色,显微镜观察肝组织病理改变;另取肝右叶于液氮中保存备用。

2.2 血清转氨酶活性检测

按照试剂盒说明书步骤,检测血清 ALT 和 AST 活性。

2.3 血清氧化应激指标检测

按照试剂盒说明书步骤,检测血清 MDA、SOD 和 GSH-Px 含量或活性。

2.4 肝组织炎症因子检测

按照 ELISA 试剂盒说明书步骤,测定肝组织 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量。

2.5 蛋白免疫印迹实验(Western blot)

称取相同位置的肝组织适量,RIPA 裂解液匀浆,充分裂解后,离心取上清液,用 BCA 试剂盒测定蛋白含量,加入蛋白上样缓冲液,煮沸变性。配制 10% 分离胶和 5% 浓缩胶,每孔加入 10 μ L 蛋白样品,80 V 恒压电泳,当指示剂接近浓缩胶与分离胶分界处时,转为 110 V 恒压,电泳至指示剂接近凝胶的底部。按照正极到负极依次为海绵垫-滤纸-膜-凝胶-滤纸-海绵垫的顺序,把电泳后的凝胶夹好,180 mA 冰浴恒流转 PVDF 膜 3 h,再封闭 2 h,TBST 洗涤

3次(10 min/次),4℃ I抗孵育过夜,次日TBST洗涤3次后,加II抗轻摇1.5 h,ECL发光液孵育后,使用上海天能全自动化学发光图像分析系统检测,用Quantity One软件计算蛋白灰度,计算蛋白相对表达量。

2.6 肝组织病理学检查

肝左叶置于4%多聚甲醛固定,梯度酒精脱水,二甲苯透明,组织浸蜡包埋,切片与贴片,脱蜡,苏木精-伊红(HE)染色,脱水透明,封固,光学显微镜200倍镜下观察肝组织病理变化。

2.7 统计学处理

采用SPSS19.0软件进行统计分析,数据以平均

值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 说明数据有统计学差异。

3 结果与分析

3.1 QWJGL对LI、SI和TI的影响

与正常组比较,模型组大鼠LI显著提高($P < 0.01$),SI和TI显著降低($P < 0.01$)。与模型组相比,QWJGL高、中剂量组大鼠LI显著降低,且SI和TI明显升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);低剂量组SI和TI显著升高($P < 0.05$),但LI变化无统计学意义($P > 0.05$)(见表1)。

表1 QWJGL对肝脏指数、脾脏指数和胸腺指数的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect on LI, SI and TI of QWJGL ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	肝脏指数 Liver index (%)	脾脏指数 Spleen index (%)	胸腺指数 Thymus index (%)
正常组 Normol	-	3.45 ± 0.39	0.38 ± 0.05	0.132 ± 0.015
模型组 Model	-	4.56 ± 0.48 ^{##}	0.28 ± 0.03 ^{##}	0.078 ± 0.009 ^{##}
水飞蓟宾组 Silymarin group	0.18	4.03 ± 0.44 ^{**}	0.34 ± 0.04 ^{**}	0.105 ± 0.013 ^{**}
QWJGL高剂量 QWJGL-high	8	3.91 ± 0.37 ^{**}	0.36 ± 0.03 ^{**}	0.109 ± 0.012 ^{**}
QWJGL中剂量 QWJGL-medium	4	4.11 ± 0.45 [*]	0.33 ± 0.04 ^{**}	0.096 ± 0.008 ^{**}
QWJGL低剂量 QWJGL-low	2	4.25 ± 0.46	0.31 ± 0.03 [*]	0.088 ± 0.009 [*]

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

Note:Compared with Normal group,^{##} $P < 0.01$;compared with Model group,^{*} $P < 0.05$;^{**} $P < 0.01$.

3.2 QWJGL对血清ALT和AST活性的影响

与正常组相比,模型组大鼠血清中ALT和AST活性明显升高($P < 0.01$),说明本实验成功建立酒精性肝损伤大鼠模型。与模型组相比,水飞蓟宾和

各剂量QWJGL均可显著降低血清ALT和AST活性,差异具有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表明QWJGL具有保护肝脏的作用,结果见表2。

表2 QWJGL对血清ALT和AST的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect on the serum ALT and AST of QWJGL ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)
正常组 Normol	-	28.49 ± 3.87	37.74 ± 4.79
模型组 Model	-	212.58 ± 24.59 ^{##}	248.54 ± 27.39 ^{##}
水飞蓟宾组 Silymarin group	0.18	155.28 ± 19.31 ^{**}	183.57 ± 20.15 ^{**}
QWJGL高剂量 QWJGL-high	8	147.33 ± 16.97 ^{**}	179.27 ± 21.33 ^{**}
QWJGL中剂量 QWJGL-medium	4	173.42 ± 19.97 ^{**}	183.95 ± 21.42 ^{**}
QWJGL低剂量 QWJGL-low	2	188.46 ± 20.17 [*]	198.53 ± 22.48 ^{**}

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

Note:Compared with Normal group,^{##} $P < 0.01$;compared with Model group,^{*} $P < 0.05$;^{**} $P < 0.01$.

3.3 QWJGL对血清SOD、GSH-Px和MDA的影响

与正常组相比,模型组大鼠血清中SOD和GSH-Px活性降低($P < 0.01$),且MDA含量增加(P

< 0.01)。与模型组相比较,QWJGL高、中剂量组大鼠血清MDA含量显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),且SOD和GSH-Px活性显著增强($P < 0.01$ 或 $P <$

0.05),低剂量组 SOD 活性明显提高($P < 0.05$),但 GSH-Px 活性和 MDA 含量无显著性变化($P >$

0.05),说明 QWJGL 可能通过抑制氧化应激发挥保肝作用(见表 3)。

表 3 QWJGL 对血清 SOD、GSH-Px 和 MDA 的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect on the serum SOD、GSH-Px and MDA of QWJGL($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 (g/kg)	SOD (U/mL)	GSH-Px (U/mL)	MDA (nmol/mL)
正常组 Normol	-	212.56 ± 19.14	102.47 ± 9.42	2.84 ± 0.21
模型组 Model	-	157.62 ± 16.53 ^{##}	76.94 ± 6.22 ^{##}	4.76 ± 0.44 ^{##}
水飞蓟宾组 Silymarin group	0.18	189.28 ± 16.36 ^{**}	86.26 ± 6.57 ^{**}	3.85 ± 0.32 ^{**}
QWJGL 高剂量 QWJGL-high	8	192.48 ± 20.07 ^{**}	91.27 ± 8.62 ^{**}	3.78 ± 0.42 ^{**}
QWJGL 中剂量 QWJGL-medium	4	186.36 ± 19.84 ^{**}	86.39 ± 9.75 [*]	3.88 ± 0.39 ^{**}
QWJGL 低剂量 QWJGL-low	2	177.47 ± 18.35 [*]	81.33 ± 9.64	4.41 ± 0.44

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

Note:Compared with Normal group,^{##} $P < 0.01$;compared with Model group,^{*} $P < 0.05$;^{**} $P < 0.01$.

3.4 QWJGL 对肝组织 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的影响

与正常组相比,模型组大鼠肝组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量均显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比较,各剂量 QWJGL 都能有效抑制大鼠肝脏

TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表明 QWJGL 保肝作用可能与抑制炎症反应有关,结果如表 4。

表 4 QWJGL 对肝组织 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect on the hepatic TNF- α 、IL-6 and IL-1 β of QWJGL($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 (g/kg)	TNF- α (pg/mg)	IL-6 (pg/mg)	IL-1 β (pg/mg)
正常组 Normol	-	142.58 ± 16.75	74.54 ± 8.37	115.37 ± 13.54
模型组 Model	-	284.69 ± 30.38 ^{##}	139.43 ± 11.88 ^{##}	216.59 ± 23.48 ^{##}
水飞蓟宾组 Silymarin group	0.18	213.54 ± 23.16 ^{**}	109.57 ± 11.26 ^{**}	175.35 ± 19.33 ^{**}
QWJGL 高剂量 QWJGL-high	8	205.37 ± 21.66 ^{**}	97.42 ± 10.74 ^{**}	178.54 ± 20.16 ^{**}
QWJGL 中剂量 QWJGL-medium	4	223.54 ± 24.86 ^{**}	113.56 ± 12.59 ^{**}	184.69 ± 21.32 ^{**}
QWJGL 低剂量 QWJGL-low	2	241.37 ± 26.84 ^{**}	124.75 ± 14.38 [*]	191.38 ± 22.47 [*]

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

Note:Compared with Normal group,^{##} $P < 0.01$;compared with Model group,^{*} $P < 0.05$;^{**} $P < 0.01$.

3.5 QWJGL 对大鼠肝组织病理形态的影响

正常组(图 1 A)可见大鼠肝小叶结构完整,轮廓清晰,肝细胞索呈放射状,排列整齐,无炎细胞浸润、细胞坏死等。模型组(图 1 B)肝小叶结构破坏,肝索排列紊乱,肝细胞坏死并且胞浆内出现弥漫性大小不等的空泡,可见炎细胞浸润,胞核模糊不清。与模型组相比较,水飞蓟宾组(图 1 C)和 QWJGL 各剂量组(图 1 D-F)肝细胞坏死和炎细胞浸润有不同程度的改善,其中 QWJGL 高剂量和中剂量组的改善效果最明显,结果如图 1。

3.6 QWJGL 对肝组织 CD14 和 NF- κ B 的影响

Western blot 实验结果显示,与正常组比较,模

型组大鼠肝组织 NF- κ B 和 CD14 蛋白表达升高($P < 0.01$),表明酒精性肝损伤发生机制可能与 NF- κ B 和 CD14 异常表达有关。与模型组相比较,水飞蓟宾组 and QWJGL 各剂量组 NF- κ B 和 CD14 表达明显降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表明 QWJGL 的保肝作用可能与抑制 CD14 和 NF- κ B 蛋白表达有关(见图 2 和表 5)。

4 结论

肝脏是体内重要的代谢器官,对药物或酒精等物质具有生物转化作用,通过新陈代谢将其分解或以原形排出体外^[5]。酒精代谢的主要场所是肝脏,

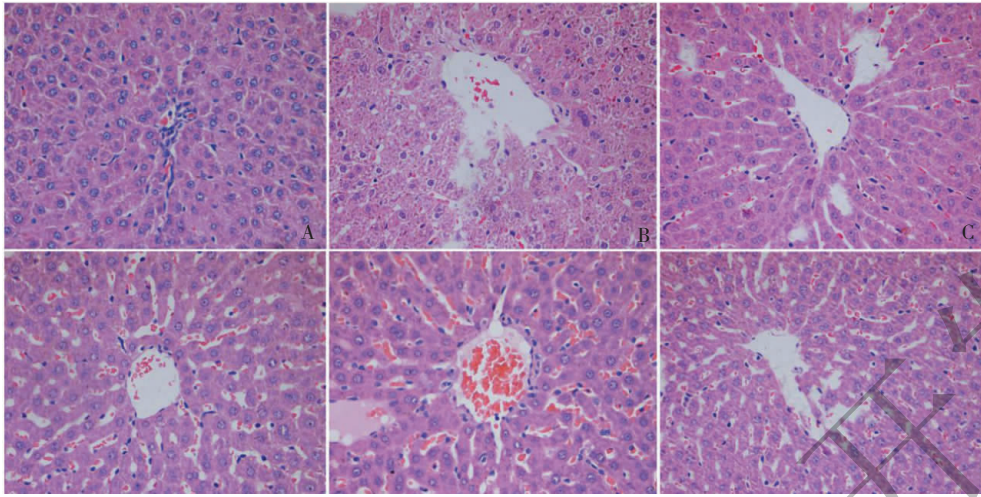


图1 QWJGL对小鼠肝组织病理形态的影响

Fig. 1 Effect on the liver pathology conformation of QWJGL

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

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

表5 QWJGL对CD14和NF-κB的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect on the CD14 and NF-κB of QWJGL($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 (g/kg)	NF-κB β-actin	CD14 β-actin
正常组 Normol	-	0.53 ± 0.06	0.45 ± 0.07
模型组 Model	-	2.58 ± 0.27 ^{##}	3.76 ± 0.40 ^{##}
水飞蓟宾组 Silymarin group	0.18	0.96 ± 0.14 ^{**}	0.85 ± 0.09 ^{**}
QWJGL高剂量 QWJGL-high	8	1.05 ± 0.12 ^{**}	0.87 ± 0.11 ^{**}
QWJGL中剂量 QWJGL-medium	4	1.43 ± 0.18 ^{**}	1.75 ± 0.27 ^{**}
QWJGL低剂量 QWJGL-low	2	2.04 ± 0.26 [*]	2.12 ± 0.28 ^{**}

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

Note:Compared with Normal group,^{##} $P < 0.01$;compared with Model group,^{*} $P < 0.05$;^{**} $P < 0.01$.

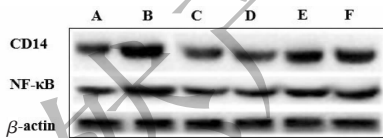


图2 QWJGL对CD14和NF-κB的影响

Fig. 2 Effect on the CD14 and NF-κB of QWJGL

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

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

长期饮酒可导致酒精代谢不及时而在体内蓄积,引发肝组织氧化应激、炎症反应等^[6]。酒精可被代谢为乙醛和乙酸,并生成氧化能力极强的活性氧自由基(ROS),进而导致线粒体损伤和膜通透性增加,可导致肝细胞坏死^[7]。

肝脏、脾脏和胸腺参与机体免疫调控、炎症反

应,其重量改变与机体免疫功能关系密切,LI、SI和TI可反映机体免疫能力和肝损伤程度^[8]。肝细胞浆和线粒体中含有ALT和AST两种转氨酶,胞膜结构受损后,ALT和AST可进入血液,导致血清ALT和AST活性升高,因此ALT和AST可作为衡量肝损伤的敏感指标^[9]。本实验结果表明,模型组大鼠LI升高,SI和TI降低,血清ALT和AST活性升高,病理切片可见肝细胞坏死、炎症病变等,证明成功建立大鼠酒精性肝损伤模型。与模型组相比较,QWJGL各用药组和水飞蓟宾组对肝细胞损伤有不同程度的改善,具有一定的保肝作用。

酒精代谢产生的ROS可与胞膜脂质发生过氧化反应,产生氧化产物MDA^[10]。MDA可与肝细胞膜上的氨基酸残基或者核酸反应,增加膜通透性并降低膜稳定性,导致肝细胞膜结构和功能紊乱,致使肝细胞死亡,因此,MDA能反映机体脂质过氧化程

度和肝组织损伤程度^[11]。正常范围的 SOD 活力是维持肝脏正常功能所必需的, SOD 能够清除 ROS, 改善氧化应激所导致的肝损伤, 故 SOD 活力可间接反映肝脏损伤程度和抗氧化能力^[12]。在抵抗酒精所致的肝损伤中, 反映机体抗氧化能力的另一指标是 GSH-Px, 酒精代谢产生的乙醛能够降低 GSH-Px 活性, 增加肝脏毒性^[13]。通过增强 GSH-Px 活性, 抑制活性氧和脂质过氧化可改善酒精引发的线粒体功能障碍^[14]。各剂量 QWJGL 可明显降低酒精性肝损伤大鼠肝组织 MDA 含量, 并增强 SOD 和 GSH-Px 活性, 提高体内抗氧化能力从而发挥肝脏保护作用。

酒精代谢产物对肝细胞造成直接损害的同时, 还可诱导肝组织 CD14 异常表达, 激活肝库普弗 (Kupffer) 细胞, 使其合成并释放大量致炎细胞因子, 如 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等, 加重肝损伤程度^[15]。炎症细胞因子 IL-6 可介导肝脏炎症反应; IL-1 β 也能诱导 Kupffer 细胞表达 CD14, 导致 Kupffer 细胞被持续激活; TNF- α 可刺激细胞产生凋亡因子、活化中性粒细胞、促使 ROS 释放等, 并诱导巨噬细胞合成并释放炎症介质, 形成炎症反应恶性循环^[16,17]。NF- κ B 可以调控炎症反应、细胞分化、凋亡等重要过程^[18]。酒精及其代谢产物可上调 NF- κ B 蛋白表达, 其进入细胞核后, 可启动炎症因子的基因转录, 促进炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等表达上调, 加重炎症反应^[19]。CD14 也能够上调 NF- κ B 表达, 促进炎症因子大量释放, 最终导致肝细胞损伤^[20]。本实验中, 各剂量 QWJGL 都能有效降低酒精性肝损伤大鼠肝组织 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 含量, 抑制 NF- κ B 和 CD14 蛋白表达, 表明 QWJGL 保肝作用机制可能与抑制炎症反应、CD14 和 NF- κ B 蛋白表达有关。

综上所述, QWJGL 对酒精性肝损伤大鼠具有保护作用, 其机制可能与抑制氧化应激、炎症反应、CD14 和 NF- κ B 蛋白表达有关。

参考文献

- Zhang KF (张可锋), Gao Y (高雅), Zhong ML (钟明利), et al. Protective effect and action mechanism of Qi-Wei-Jing-Gan-Ling on immunological liver injury in mice induced by BCG combined with LPS[J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 2016, 36: 1062-1065.
- Zhang KF (张可锋), Huang SM (黄思茂), Cao HK (曹后康), et al. Study on the liver-protecting function and mechanism of Qiwei Jingganling based on JAK2/STAT3 signal pathway[J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2017, 40: 1434-

- 1438.
- Ambade A, Catalano D, Lim A, et al. Inhibition of heat shock protein 90 alleviates steatosis and macrophage activation in murine alcoholic liver injury[J]. *J Hepatol*, 2014, 61: 903-911.
- Vargas-Mendoza N, Madrigal-Santillán E, Morales-González A, et al. Hepatoprotective effect of silymarin [J]. *World J Hepatol*, 2014, 6: 144-149.
- 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, 18: 200-204.
- Srivastava A, Shivanandappa T. Hepatoprotective effect of the aqueous extract of the roots of *Decalepis hamiltonii*, against ethanol-induced oxidative stress in rats [J]. *Hepatol Res*, 2006, 35: 267-275.
- Lalor PF, Faint J, Aarbodem Y, et al. The role of cytokines and chemokines in the development of steatohepatitis [J]. *Semin Liver Dis*, 2007, 27: 173-193.
- Yu F. Protective effects of *Angelica sinensis* polysaccharide on immunological liver injury induced by concanavalin A in mice [J]. *J Chin Med Mater*, 2009, 32: 1580.
- Wang FH (王凤华), Han JC (韩吉春), Li DF (李德芳), et al. 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 [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29: 569-574.
- Kalpna C, Sudheer AR, Rajasekharan KN, et al. Comparative effects of curcumin and its synthetic analogue on tissue lipid peroxidation and antioxidant status during nicotine-induced toxicity [J]. *Singapore Med J*, 2007, 48: 124-130.
- Yuan LP, Chen FH, Ling L, et al. Protective effects of total flavonoids of *Bidens pilosa* L. (TFB) on animal liver injury and liver fibrosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 116: 539-546.
- Cederbaum AI, Lu Y, Wu D. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury [J]. *Arch Toxicol*, 2009, 83: 519-548.
- Yang G, Jia L, Wu J, et al. Effect of tanshinone IIA on oxidative stress and apoptosis in a rat model of fatty liver [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14: 4639-4646.
- Rong S, Zhao Y, Bao W, et al. Curcumin prevents chronic alcohol-induced liver disease involving decreasing ROS generation and enhancing antioxidative capacity [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19: 545-550.
- Luckey SW, Petersen DR. Activation of Kupffer cells during the course of carbon tetrachloride-induced liver injury and fibrosis in rats [J]. *Exp Mol Pathol*, 2001, 71: 226-240.