

基于 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路研究岩白菜素对急性肝损伤大鼠的保护作用

蓝颖¹,张可锋²,连苑宇²,陈俊杰²,杨超越²,王跃峰^{2*},高雅^{2*}

¹广西壮族自治区人民医院,南宁 530021;²桂林医学院药学院,桂林 541000

摘要:基于 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路探讨岩白菜素对四氯化碳(CCl₄)致大鼠急性肝损伤的保肝作用及其作用机制。60 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、水飞蓟素(120 mg/kg)组、岩白菜素低、中、高(20、40、80 mg/kg)剂量组,每组 10 只。水飞蓟素组、岩白菜素各剂量组大鼠按照 10 mL/kg 灌胃给药,正常组和模型组灌胃相应体积溶剂,每日 1 次,连续 1 周。末次给药 2 h 后,除正常组以外,其余各组腹腔注射 25% 四氯化碳(CCl₄)橄榄油溶液 2 mL/kg,建立急性肝损伤大鼠模型。禁食不禁水,16 h 后眼球取血,并收集肝脏。生化法测定血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)以及超氧化物歧化酶(SOD)的水平或活性。酶联免疫吸附法(ELISA)测定检测肝组织中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF- α)和白细胞介素-1 β (IL-1 β)的含量。采用 HE 染色观察肝组织的病理变化程度,免疫组化(IHC)观察肝组织中 IL-6 的表达水平,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 IL-6/JAK2/STAT3 通路相关蛋白的表达水平。实验结果表明,与模型组相比,岩白菜素各剂量组和水飞蓟素组大鼠肝组织炎症坏死和 IL-6 表达不同程度的减轻。岩白菜素可显著降低血清中的 ALT、AST、MDA 和肝组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 活性或水平,上调血清中 ALB、SOD 和 GSH-Px 的活性或水平,并且抑制 IL-6/JAK2/STAT3 通路相关蛋白的表达。综上所述,岩白菜素对 CCl₄ 致急性肝损伤大鼠具有保护作用,其保肝机制可能与 IL-6/JAK2/STAT 信号通路介导的炎症反应和抗氧化有关。

关键词:岩白菜素;急性肝损伤;四氯化碳;炎症反应;IL-6/JAK2/STAT3 信号通路

中图分类号:R965.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)9-1445-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.9.001

Study on the protective effect of bergenin on acute liver injury in rats based on IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway

LAN Ying¹, ZHANG Ke-feng², LIAN Yuan-yu², CHEN Jun-jie², YANG Chao-yue², WANG Yue-feng^{2*}, GAO Ya^{2*}

¹People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China;

²School of Pharmacy, Guilin Medical College, Guilin 541000, China

Abstract: To explore the hepatoprotective effect and mechanism of bergenin on acute liver injury induced by CCl₄ in rats based on IL-6/JAK2/STAT3 signal pathway. A total of 60 SD rats were randomly divided into normal group, model group, silymarin group (120 mg/kg), and bergenin low, middle and high dose (20, 40, 80 mg/kg) groups with 10 rats in each group. Rats in silymarin group and bergenin groups were given intragastric administration according to 10 mL/kg, while normal group and model group were given corresponding volume of solvent once a day for a week. Two hours after the last administration, except the normal group, the other groups were intraperitoneally injected with 25% CCl₄ olive oil solution 2 mL/kg, to establish the rat model of acute liver injury. After fasting, the blood was taken from the eyeball and the liver was collected after 16 hours of fasting. The levels or activities of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), albumin (ALB), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD) in serum were determined by biochemical method. The contents of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) in liv-

收稿日期:2021-04-07 接受日期:2021-08-04

基金项目:广西壮族自治区教育厅八桂学者专项(桂财教函[2017]143号);广西大学生创新创业项目(201910601119)

* 通信作者 Tel:86-013977322062; E-mail: kfzhang1982@163.com, svidy@163.com

er tissue were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The pathological changes of liver tissue were observed by HE staining, and the expression level of IL-6 in liver tissue was observed by immunohistochemical (IHC). The protein expression levels of JAK2, p-JAK2, STAT3, p-STAT3, NF- κ B p65 and p-NF- κ B p65 were detected by Western blot. The results showed that inflammation, necrosis and IL-6 expression of liver tissue were reduced in different doses of bergenin and silymarin groups compared with model group, bergenin significantly reduced the activities or levels of ALT, AST, MDA in serum, TNF- α , IL-6 and IL-1 β in liver tissue, up-regulated the activities or levels of ALB, SOD and GSH-Px in serum, and inhibited the expression of proteins related to IL-6/JAK2/STAT3 pathway. In conclusion, bergenin has a protective effect on acute liver injury induced by CCl₄ in rats, and the liver protection mechanism may be related to the inflammatory response and antioxidant mediated by IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway.

Key words: bergenin; acute liver injury; CCl₄; inflammatory response; IL-6/JAK2/STAT3 signal pathway

急性肝损伤是一种在短期内由于药物中毒、免疫损伤、病毒感染等原因诱发的突发性肝功能异常疾病,目前治疗肝损伤的方法很多,西药疗效明显但药物不良反应较多且价格昂贵,肝移植治疗方法也存在供源缺乏、并发症多且病死率高等一系列问题^[1]。课题组前期研究发现,中药在预防和治疗肝损伤中呈现独特的疗效,特别是中药提取物和中药单体化合物在抗氧化和调节炎症反应中作用显著,能有效降低 CCl₄ 诱导的急性肝损伤大鼠体内谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平和炎症因子的释放,提高谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化酶的活性起到抗炎和抗氧化作用改善肝损伤,近年来也有茵栀黄注射液、水飞蓟素片等中成药开发上市来治疗肝损伤且临床疗效显著,但大多作用机制尚不明确^[2-4]。岩白菜素是一种白色疏松针状结晶或结晶粉末状化合物,化学式 C₁₄H₁₆O₉,相对分子质量 328.27,易溶于甲醇微溶于水或乙醇,该化合物存在于虎耳草科岩白菜全草及厚叶岩白菜和紫金牛科百两金的根茎叶中,是一种民间常用药,分布于我国四川西南部、湖南、云南北部及西藏南部和东部,又称为岩虎耳草素、矮茶素、岩白菜内脂、佛手配质等^[5]。其具有良好的生物活性:如抗炎、抗癌、抗病毒、免疫调节、抗心律不齐等,临床上常用来治疗慢性支气管炎^[6-9]。目前关于岩白菜素保肝的作用研究较少,因此,我们用 CCl₄ 诱导建立大鼠急性肝损伤模型,探究岩白菜素对急性肝损伤大鼠的保护作用,筛选新的保肝药物,探究其治疗急性肝损伤的作用机制来提高中药防治的靶向性,为药物的临床应用和开发提供依据。

1 材料与试剂

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只,体重 180 ~ 220 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号:

SCXK(湘)2016-0002,伦理委编号:GLMC201904008。

1.2 实验药物与试剂

岩白菜素(毕得医药,纯度 \geq 98.65%,批次:RMC804);分析纯 CCl₄(广东汕头市西陇化工厂);水飞蓟素(美伦生物技术有限公司,批号:M1120A);丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、白蛋白(ALB)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(南京建成生物工程研究所);肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素 1 β (IL-1 β)和白介素 6(IL-6)ELISA 试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司);Janus 蛋白酪氨酸激酶 2(JAK2)、磷酸化 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2(p-JAK2)、磷酸化信号转导和转录活化因子 3(p-STAT3)、信号转导和转录活化因子 3(STAT3)、核转录因子- κ B p65(NF- κ B p65)、磷酸化核转录因子- κ B p65(p-NF- κ B p65)蛋白抗体(英国 Abcam 公司); β -actin 抗体购自傲锐东源生物科技有限公司;RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒和 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(碧云天生物技术研究);Super ECL Plus 超敏发光液(北京普利莱基因科技有限公司)。

1.3 仪器

FRESCO 21 高速冷冻离心机(Thermo Fisher Scientific 公司);Olympus BX51 显微镜(奥林巴斯);Epoch 2HS 酶标仪(Bio-Tek 公司);THZ-C-1 台式冷冻恒温振荡器(太仓市实验设备厂);电泳仪和转膜仪(Bio-Tek 公司);全自动化学发光图像分析检测系统(上海天能科技有限公司);Eppendorf 移液器(Eppendorf 股份公司);AUW220D 半微量电子天平(岛津公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药

60 只大鼠随机分为正常组、模型组、水飞蓟素

(120 mg/kg)组、岩白菜素(20、40、80 mg/kg)低、中、高剂量组,每组10只。水飞蓟素组,岩白菜素低中高剂量组大鼠每天以10 mL/kg灌胃给药,正常组和模型组灌胃相应体积蒸馏水,每日1次,连续一周。末次给药2 h后,除正常组以外,其余各组大鼠均腹腔注射25% CCl₄ 橄榄油溶液2 mL/kg,建立急性肝损伤模型。禁食不禁水,16 h后眼球取血,并收集肝脏。

2.2 肝组织病理学检测

使用4%多聚甲醛固定各组大鼠肝组织48 h,经过梯度乙醇脱水,石蜡包埋,将蜡块以4 μm厚度制作切片,进行HE染色,光学显微镜下观察大鼠肝组织的病理变化。

2.3 生化指标检测

将收集的血液在4℃静置3 h,放置于离心机离心15 min(4℃,4 500 rpm),收集血清置于-20℃中冰箱保存备用。生化法检测血清中ALT、AST、ALB、MDA、GSH-Px、SOD活性或含量。

2.4 ELISA 检测肝组织中 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 的含量

将肝组织置于研磨管中充分研磨,制备组织匀浆,取上清液后严格按照试剂盒说明书操作,检测并计算肝组织中IL-1β、IL-6及TNF-α的含量。

2.5 蛋白免疫印迹法实验

取肝组织约60 mg于研磨管,用移液枪吸取1 mL细胞裂解液加入研磨管后置于冰上充分研磨,待组织完全裂解后转移至EP管中,离心(4℃,14 000 rpm,10 min),取上清液,采用BCA法测定蛋白含量。先配制浓度为10%的分离胶和浓度为5%的浓缩胶,加入蛋白样品后,调节电压为80 V进行SDS-PAGE电泳。电泳结束后,在冰浴条件下300 mA恒流转膜90 min,将蛋白转至PVDF膜,封闭2 h后,用TBST漂洗3次,加入I抗置于4℃孵育过夜;TBST漂洗3次后加入II抗,4℃孵育2 h,采用ECL法显色,全自动化学发光图像分析系统显影,分析蛋白灰度并计算目的蛋白相对表达量。

2.6 免疫组化实验

将4 μm组织切片于烘箱中37℃烘片过夜,二甲苯脱蜡10 min,脱蜡后浸入梯度浓度乙醇中水化,使用抗原修复液枸橼酸钠高压修复抗原4 min,修复后将切片冷却至室温,置于内源性过氧化物酶阻断剂10 min。PBS润洗3次后滴加I抗于组织切片,37℃孵育1 h,PBS润洗3次后滴加II抗孵育1 h,

最后滴加DAB显色液孵育3~5 min,进行苏木素染色、盐酸酒精分化,流水反蓝后梯度乙醇脱水,中性树胶封片,置于光学显微镜下观察IL-6表达情况。

2.7 统计学方法

数据结果以平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS 19.0软件进行统计学分析。经正态性检验不符合正态分布,多组间比较采用Kruskal-Wallis秩和检验;经正态性检验符合正态分布,多组间比较采用单因素方差分析。以差异为 $P < 0.05$ 具有统计学意义。

3 实验结果

3.1 岩白菜素对 CCl₄ 致急性肝损伤大鼠肝组织病理形态的影响

观察HE染色及免疫组化结果,正常组(图1A)大鼠中央静脉周围未见细胞坏死,炎症细胞浸润等病理变化,且肝小叶结构完整,肝细胞呈放射状整齐排列。模型组(图1B)大鼠可见肝小叶结构严重破坏,汇管区及中央静脉周围出现大量肝细胞变性且坏死和炎症细胞浸润;与模型组相比,水飞蓟素(图1C)和岩白菜素组中(图1E)、高(图1F)剂量大鼠可见肝损伤程度明显降低,肝组织病变明显改善,岩白菜素高剂量组(图1F)改善状况尤为明显,其肝小叶和肝细胞结构清晰,炎症细胞浸润和细胞坏死情况改善。

3.2 岩白菜素对 CCl₄ 致急性肝损伤大鼠肝组织 IL-6 表达的影响

免疫组化结果显示,模型组(图2B)黄棕色沉积物聚集增多,显示IL-6表达明显升高,主要在受损肝细胞周围表达;与模型组相比,水飞蓟素(图2C)和岩白菜素组中(图2E)、高(图2F)剂量大鼠肝脏中IL-6表达明显降低,结果如图1和图2所示。

3.3 岩白菜素对大鼠血清中肝功能、氧化应激指标的影响

与正常组相比,模型组大鼠血清中ALT、AST、MDA水平显著上升($P < 0.01$),ALB、SOD、GSH-Px含量或活性显著降低($P < 0.01$)。与模型组相比,水飞蓟素组和岩白菜素中、高剂量组大鼠血清中ALT、AST、MDA水平显著降低($P < 0.01$),ALB含量增加,SOD、GSH-Px活性显著升高($P < 0.01$);岩白菜素低剂量组ALT、MDA水平降低($P < 0.05$),AST、ALB、SOD、GSH-Px活性或水平无统计学意义(见表1、表2)。

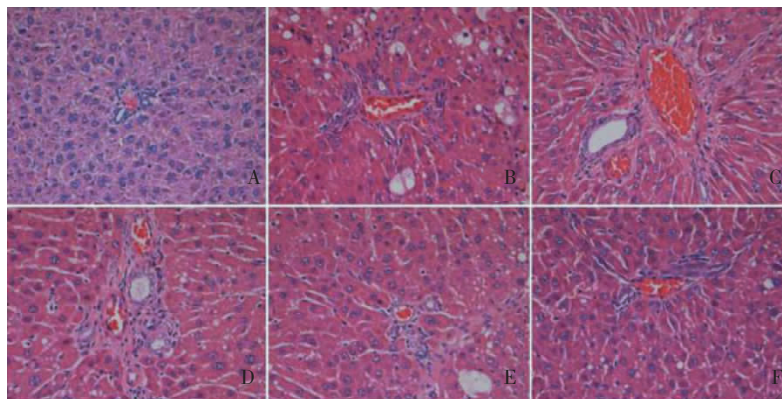


图1 肝组织 HE 染色病理检查图(200 ×)

Fig. 1 HE staining pathological examination of liver tissue (200 ×)

注:A:正常组;B:模型组;C:水飞蓟素组;D:岩白菜素低剂量组;E:岩白菜素中剂量组;F:岩白菜素高剂量组;下同。Note:A:Normal group; B:Model group;C:Silymarin group;D:Bergenin low dose group;E:Bergenin middle dose group;F:Bergenin high dose group;The same below.

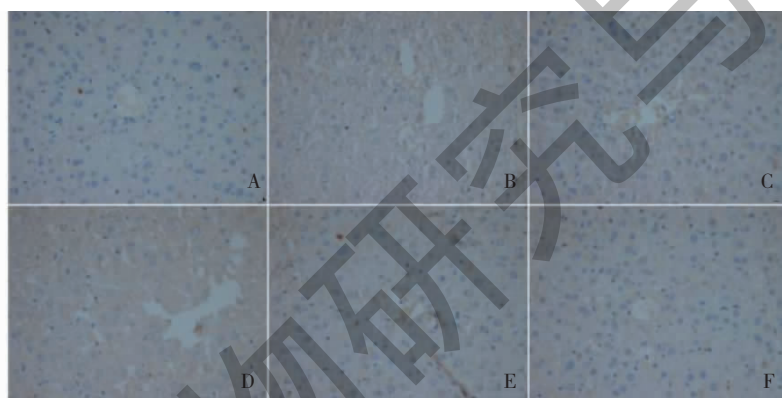


图2 肝组织 IHC 染色病理检查图(100 ×)

Fig. 2 IHC staining pathological examination of liver tissue (100 ×)

表1 岩白菜素对 CCl₄ 致急性肝损伤大鼠血清中 ALT、AST 和 ALB 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 1 Effects of bergenin on the activities of ALT,AST and ALB in serum of rats with acute liver injury induced by CCl₄($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALB (U/L)
正常组 Normal	-	66.31 ± 4.21	71.22 ± 6.52	40.21 ± 5.69
模型组 Model	-	164.22 ± 13.11 ^{##}	181.23 ± 17.31 ^{##}	27.14 ± 7.21 ^{##}
水飞蓟素组 Silymarin	120	108.31 ± 9.03 ^{**}	104.32 ± 10.42 ^{**}	35.23 ± 5.21 [*]
岩白菜素低剂量组 Bergenin-L	20	152.22 ± 11.74 [*]	169.38 ± 11.04	31.96 ± 5.69
岩白菜素中剂量组 Bergenin-M	40	102.54 ± 10.07 ^{**}	99.42 ± 8.66 ^{**}	35.57 ± 7.21 [*]
岩白菜素高剂量组 Bergenin-H	80	82.64 ± 6.31 ^{**}	83.91 ± 7.85 ^{**}	36.99 ± 8.23 ^{**}

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

Note:Compared with normal group,^{##} $P < 0.01$;Compared with model group,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;The same below.

3.4 岩白菜素对大鼠肝组织中炎症因子含量的影响

与正常组相比,模型组肝组织 TNF- α 、IL-6、IL-

1 β 的含量显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比,水飞蓟素组和岩白菜素中、高剂量组大鼠肝组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的含量显著降低($P < 0.01$);岩

表 2 岩白菜素对 CCl₄ 致急性肝损伤大鼠血清中 MDA、SOD 和 GSH-Px 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of bergenin on the activities of MDA, SOD and GSH-Px in serum of rats with acute liver injury induced by CCl₄ ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	MDA (nmol/mL prot)	SOD (U/mL prot)	GSH-Px (U/mL prot)
正常组 Normal	-	0.49 ± 0.03	136.72 ± 11.52	66.21 ± 5.08
模型组 Model	-	0.94 ± 0.06 ^{##}	65.86 ± 5.05 ^{##}	24.02 ± 1.53 ^{##}
水飞蓟素组 Silymarin	120	0.71 ± 0.06 ^{**}	91.86 ± 7.07 ^{**}	45.74 ± 3.31 ^{**}
岩白菜素低剂量组 Bergenin-L	20	0.87 ± 0.07 [*]	72.53 ± 6.63	28.34 ± 4.63
岩白菜素中剂量组 Bergenin-M	40	0.72 ± 0.06 ^{**}	98.52 ± 8.33 ^{**}	42.53 ± 3.06 ^{**}
岩白菜素高剂量组 Bergenin-H	80	0.66 ± 0.05 ^{**}	102.2 ± 9.42 ^{**}	55.81 ± 4.16 ^{**}

白菜素低剂量组 IL-6 和 IL-1β 含量降低 ($P < 0.05$), TNF-α 含量无统计学意义 (见表 3)。

3.5 岩白菜素对 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白表达的影响

与正常组相比,模型组大鼠肝组织中 p-JAK2、p-STAT3、p-NF-κB p65 蛋白表达水平显著升高 (P

< 0.01)。与模型组相比,水飞蓟素组和岩白菜素中、高剂量组肝组织中 p-JAK2、p-STAT3、p-NF-κB p65 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$);岩白菜素低剂量组 p-JAK2 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$), p-STAT3、p-NF-κB p65 蛋白表达无统计学意义 (见图 3)。

表 3 岩白菜素对 CCl₄ 致急性肝损伤大鼠肝组织中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of bergenin on the contents of TNF-α, IL-6 and IL-1β in liver tissue of rats with acute liver injury induced by CCl₄ ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	剂量 (mg/kg)	TNF-α (pg/mg)	IL-6 (pg/mg)	IL-1β (pg/mg)
正常组 Normal	-	145.52 ± 13.21	116.92 ± 10.01	167.52 ± 14.53
模型组 Model	-	451.25 ± 41.31 ^{##}	311.44 ± 26.82 ^{##}	596.88 ± 52.74 ^{##}
水飞蓟素组 Silymarin	120	320.43 ± 29.31 ^{**}	240.67 ± 23.31 ^{**}	472.81 ± 46.75 ^{**}
岩白菜素低剂量组 Bergenin-L	20	421.27 ± 38.02	295.33 ± 24.74	551.52 ± 49.75
岩白菜素中剂量组 Bergenin-M	40	363.48 ± 27.31 [*]	283.94 ± 20.31 [*]	523.65 ± 46.08 [*]
岩白菜素高剂量组 Bergenin-H	80	251.82 ± 21.21 ^{**}	181.62 ± 17.42 ^{**}	361.73 ± 34.97 ^{**}

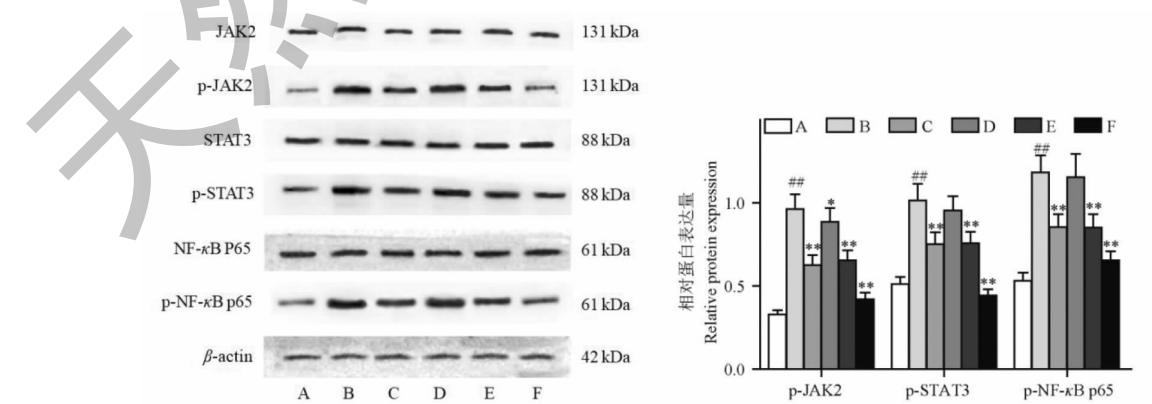


图 3 岩白菜素对 CCl₄ 致急性肝损伤大鼠肝组织中 p-JAK2、p-STAT3、p-NF-κB p65 蛋白表达的影响

Fig. 3 Effect of bergenin on p-JAK2, p-STAT3, p-NF-κB p65 protein expression in acute liver injury induced by CCl₄

4 讨论与结论

肝脏是人体最大的实质器官,具有分解代谢、清除毒素、抗氧化等功能,然而肝脏容易受到体内外各种致病因素的侵扰而损伤,肝脏疾病作为临床的常见疾病,一直是全球医药学关注和研究的重点,而急性肝损伤又是几乎所有肝脏疾病的起点^[10]。本实验使用 CCl₄ 建立急性肝损伤大鼠模型是经典的造模方法之一,CCl₄ 通过腹腔注射进入动物体内,可直接进入肝细胞,经过肝脏细胞色素 P450 生物转化,在体内生成 CCl₃ 和 CCl₃O₂ 自由基,CCl₃ 与细胞内大分子物质进行自由结合,导致肝细胞膜结构和功能被破坏,最终引起肝细胞变性、坏死^[11,12]。肝细胞被损伤后,大量 AST、ALT 会进入血液,导致血清中 AST 和 ALT 水平显著升高^[13]。GSH-Px 和 SOD 可以清除体内细胞代谢产生的过氧化物和自由基,缓解肝组织损伤保护肝细胞^[14]。IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 都是急性肝损伤中的重要促炎因子,IL-1 β 能通过自身的分泌刺激炎症递质和细胞因子的产生,IL-6 是 T 细胞和成纤维细胞产生的淋巴因子,能作为炎症反应的主要调节介质,TNF- α 主要由 NK 细胞、巨噬细胞和 T 细胞产生,具有免疫调节功能和参与炎症反应,TNF- α 和 IL-1 β 能够诱导 IL-6 炎症因子的产生,形成炎症的级联放大效应,最终加重肝损伤^[15,16]。本实验研究结果表明,岩白菜素能降低 CCl₄ 诱导的急性肝损伤大鼠血清中 ALT、AST、MDA 水平,提高 SOD、GSH-Px 活性,降低肝组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的含量,提示岩白菜素对 CCl₄ 引起的急性肝损伤有改善作用,可能与抗氧化应激和抑制炎症反应有关。

研究表明,JAK-STAT 信号通路是近年来发现的一条信号转导通路,通过参与多种生长因子、细胞因子的信号转导来调节免疫和炎症反应^[17]。IL-6 是一种调节免疫和炎症反应的多功能细胞因子,IL-6/JAK2/STAT3 信号通路的激活是 IL-6 与其靶细胞表面的受体 sIL-6R 识别结合形成复合物 sIL-6R/IL-6,膜表面糖蛋白 130(gp-130) 被其活化后使得相关联的 JAK2 被激活,激活后的 JAK2 与下游效应因子信号转导和激活转录因子 3(STAT3) 结合发生磷酸化^[18,19]。磷酸化的 STAT3 激活核转录因子 NF- κ B, NF- κ B 被激活转移到细胞核后,继而促进 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等炎症因子释放,这些炎症因子表达过量时,又可正反馈作用于 NF- κ B,继而促进炎症反应,加重肝组织的损伤^[20-22]。此外,IL-6/JAK2/

STAT3 通路的激活可促进 B 细胞分化为浆细胞,并刺激 IL-6 的自分泌,从而形成正反馈循环,也会导致炎症反应进一步扩大^[23-25]。本研究结果显示,与正常组相比模型组 IL-6 及 p-JAK2、p-STAT3、p-NF- κ B p65 表达显著增加,提示该炎症信号通路可能被激活;给予岩白菜素药物治疗后,血清中肝功能指标 ALT、AST、MDA、SOD、GSH-Px 趋向正常,IL-6、p-JAK2、p-STAT3、p-NF- κ B p65 的表达不同程度降低,病理切片显示肝组织汇管区及中央静脉周围肝细胞变性坏死和炎症细胞浸润状况明显改善,免疫组化明显可见 IL-6 表达不同程度降低,以上提示岩白菜素可能通过干预 IL-6 的表达,从而抑制 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路的激活减少炎症因子的释放,减少炎症和凋亡,从而有效地改善肝损伤。

综上所述,岩白菜素可有效减缓 CCl₄ 诱导的大鼠急性肝损伤,其机制可能与 IL-6/JAK2/STAT 信号通路介导的炎症反应和抗氧化有关,本研究结果可为临床采用岩白菜素治疗急性肝损伤提供新思路。

参考文献

- 1 Lu W, Pan M, Fang YK, et al. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine in the treatment of acute liver injury [J]. Cent South Pharm (中南药学), 2019, 17: 1504-1507.
- 2 Li ZM, Zhang KF, Zhu YZ, et al. Study on protective effect and mechanism of compound yexiazhu decoction on rats with acute liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. Chin J Clin Pharmacol (中国临床药理学杂志), 2020, 36(1): 158-163.
- 3 Li JN, Li ZM, Gao Y, et al. Protective effect and mechanism of geranium on D-galactosamine-induced liver injury in mice [J]. J Chin Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2019, 25(15): 116-121.
- 4 Gao Y, Xi BT, Cao HK, et al. Study on the hepatoprotective effect and mechanism of total flavonoids of abacus root based on oxidative stress and TLR-4/NF- κ B pathway [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Clin Med (中药药理与临床), 2018, 34(4): 74-77.
- 5 Tian CR, Tan XS, Wu TT, et al. Research progress on the biological activity of bergenin [J]. Food Res Dev (食品研究与开发), 2014, 35(5): 128-132.
- 6 Bajracharya, Gan B. Diversity, pharmacology and synthesis of bergenin and its derivatives; potential materials for therapeutic usages [J]. Fitoterapia, 2015, 101: 133-152.

- 7 Shi XY, Xu MM, Luo K, et al. Anticancer activity of bergin against cervical cancer cells involves apoptosis, cell cycle arrest, inhibition of cell migration and the STAT3 signalling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17:3525-3529.
- 8 Gao HS, Wei Y, Tong LD, et al. Establishment of an analytical method for bergenin in rat plasma and its pharmacokinetics *in vivo* [J]. *J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报)*, 2016, 33:950-953.
- 9 Oliveira GAL, Lastra CA, Rosillo MÁ, et al. Preventive effect of bergenin against the development of TNBS-induced acute colitis in rats is associated with inflammatory mediators inhibition and NLRP3/ASC inflammasome signaling pathways [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 297:25-33.
- 10 Yu SW, Chen Z. Research progress of acute liver injury model and signal pathway[J]. *J Pharm Res (药学研究)*, 2019, 38(1):49-52.
- 11 Chen C, Chen YF, Cao HK, et al. Protective effect and mechanism of wood sorrel on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats[J]. *J Chin Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*, 2018, 24(16):141-145.
- 12 Gao Y, Wang G, Du PS, et al. Effect of white horse bone aqueous extract on oxidative stress and inflammation in mice with acute liver injury[J]. *J Chin Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*, 2017, 23(21):135-140.
- 13 Lian YY, XU J, Zhu TT, et al. The protective effect of *Polygonum perfoliatum* L. on acute liver injury in rats was studied based on the SIRT6/NF- κ B signaling pathway[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2020, 32:1818-1825.
- 14 Zheng DX, Zhang KF, JIN L, et al. Study on the mechanism of polysaccharides from *Dicliptera chinensis* in alleviating liver fibrosis based on LIN28A/NF- κ B signaling pathway[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2021, 33:386-393.
- 15 Zhang KF, Gao Y, Zhong ML, et al. Hepatoprotective effects of *Dicliptera chinensis polysaccharides* on dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis rats and its underlying mechanism[J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 179:38-44.
- 16 Cao HK, Wei RM, Zhang KF, et al. Protective effect of polysaccharides from *Polygala fallax* Hemsl on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form(中药材)*, 2018, 41(1):203-206.
- 17 Li Y, Tang YB, Li YX, et al. Study on the role of compound angelica injection in the inflammatory response of ischemic stroke based on IL-6 and JAK2/STAT3 signal pathway[J]. *J Hunan Univ Chin Med(湖南中医药大学学报)*, 2020, 40:412-417.
- 18 Liu Y, Zhang J, Zhou YH, et al. Activation of the IL-6/JAK2/STAT3 pathway induces plasma cell mastitis in mice [J]. *Cytokine*, 2018, 110:150-158.
- 19 Ashok K, Singh I, Archana S, et al. Novel indole-fused benzoxazepines (IFBOs) inhibit invasion of hepatocellular carcinoma by targeting IL-6 mediated JAK2/STAT3 oncogenic signals[J]. *Sci Rep*, 2018, 8:5932-5945.
- 20 Kim JS, Won JS, Singh AK, et al. STAT3 regulation by S-nitrosylation: implication for inflammatory disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20:2514-2527.
- 21 Kuo DY, Chen PN, Hsieh YS. Targeting oxidative stress in the hypothalamus; the effect of transcription factor STAT3 knockdown on endogenous antioxidants mediated appetite control[J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(1):87-100.
- 22 Zhang F, Ren Z, Gao Y, et al. Study on the hepatoprotective effect of geranium on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice based on TLR-4/NF- κ B signaling pathway[J]. *J Chin Med Mater(中药材)*, 2018, 41:2906-2910.
- 23 Fairfax KA, Kallies A, Nutt S L, et al. Plasma cell development; from B-cell subsets to long-term survival niches [J]. *Semin Immunol*, 2008, 20(1):49-58.
- 24 Zhang H, Liu Y, Wang LK, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate attenuates 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.
- 25 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.