

## 滨蒿内酯通过抑制 matrilin-2 的表达防治过量对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤

王永辉<sup>1</sup>, 周 静<sup>1</sup>, 张晓川<sup>2</sup>, 杨 扬<sup>3\*</sup>

1. 驻马店市中心医院 药学部, 河南 驻马店 463000

2. 郑州大学第一附属医院 中医学部, 河南 郑州 450052

3. 河南省人民医院 河南省神经疾病影像诊断与研究重点实验室, 河南 郑州 450003

**摘要:** **目的** 探讨滨蒿内酯防治过量对乙酰氨基酚 (APAP) 诱导的小鼠急性肝损伤的作用及其机制。**方法** 30 只 C57BL/6 小鼠按体重随机分对照组、模型组、*N*-乙酰-*L*-半胱氨酸 (NAC) 组和滨蒿内酯 25、50 mg/kg 组, 每组 6 只。NAC 组和滨蒿内酯组连续 ig 给药 7 d 后, ip 300 mg/kg APAP 24 h 诱导小鼠建立急性肝损伤模型。收集小鼠血清和肝组织, 检测血清中丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP) 水平, 检测肝组织中丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽 (GSH) 水平; HE 染色观察肝组织病理学变化; TUNEL 染色检测肝细胞凋亡情况; Western blotting 和 RT-qPCR 法检测肝组织 matrilin-2 的蛋白和 mRNA 表达水平。**结果** 与模型组比较, 滨蒿内酯能显著降低 APAP 诱导小鼠血清 ALT、AST 和 ALP 水平, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 滨蒿内酯能显著降低肝组织 MDA 水平, 增加肝组织 SOD 和 GSH 水平, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 滨蒿内酯能显著降低肝组织坏死面积、减少细胞凋亡, 降低 matrilin-2 的蛋白和 mRNA 表达水平 ( $P < 0.05$ )。**结论** 滨蒿内酯可以改善 APAP 诱导的小鼠急性肝损伤, 其作用机制可能是通过抑制 matrilin-2 的表达。

**关键词:** 滨蒿内酯; 对乙酰氨基酚; 急性肝损伤; matrilin-2; 丙氨酸氨基转移酶; 天冬氨酸氨基转移酶; 碱性磷酸酶; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2020)07-1301-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.07.003

## Prevention of scoparone on acute liver injury induced by excessive acetaminophen in mice by inhibiting the expression of matrilin-2

WANG Yong-hui<sup>1</sup>, ZHOU Jing<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-chuan<sup>2</sup>, YANG Yang<sup>3</sup>

1. Department of Pharmacy, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China

2. Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

3. Henan Province Key Laboratory for Medical Imaging of Neurological Disease, Henan Province People's Hospital, Zhengzhou 450003, China

**Abstract: Objective** To investigate the effect and mechanism of scoparone on acute liver injury induced by excessive acetaminophen (APAP) in mice. **Methods** Thirty C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group, NAC group, scoparone 25 and 50 mg/kg groups according to their body weight. The acute liver injury model was induced by ip injection of APAP (300 mg/kg) for 24 h in NAC group and scoparone group after 7 d of continuous gavage. The contents of ALT, AST, and ALP in serum, and MDA, SOD and GSH in liver tissue were measured, and the pathological changes of liver tissue was detected with HE staining. The apoptosis of hepatocyte was measured using TUNEL staining, and the mRNA and protein levels of matrilin-2 in liver tissue were detected with RT-qPCR and Western blotting. **Results** Compared with model group, scoparone could significantly reduce the serum ALT, AST, and ALP levels of mice induced by APAP, with a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, scoparone could significantly reduce the MDA content of liver tissue, but increase the SOD and GSH levels of liver tissue, with a statistically

收稿日期: 2020-05-07

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20190224)

作者简介: 王永辉, 男, 主管药师, 研究方向为临床药学。E-mail: wangyonghui7798@163.com

\*通信作者 杨 扬 (1980—), 男, 博士, 副主任医师。E-mail: yangyang19800627@163.com

significant difference ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, scoparone could significantly reduce the necrosis and apoptosis of liver tissue, and the protein and mRNA expression levels of matrilin-2 was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Scoparone can ameliorate the acute liver injury induced by APAP in mice, and its mechanism may be through inhibiting the expression of matrilin-2.

**Key words:** scoparone; acetaminophen; acute liver injury; matrilin-2; ALT; AST; ALP; MDA; SOD; GSH

对乙酰氨基酚 (APAP) 是一种常用的解热镇痛类非处方药, 过量 APAP 引起的肝毒性可造成急性肝衰竭<sup>[1]</sup>。茵陈亦称茵陈蒿、滨蒿等, 为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥地上部分, 具有利胆退黄、保肝、抗炎、解热镇痛的功效。有报道称, 茵陈能够增肝脏细胞色素 P450 同工酶活性, 而加速 APAP 在肝脏的代谢<sup>[2]</sup>。其主要活性成分滨蒿内酯对肝纤维化、胆汁淤积性肝损伤和非酒精性脂肪肝等疾病均有治疗作用<sup>[3-5]</sup>。最近的研究发现, 细胞外基质关键蛋白 matrilin-2 在肝癌、肝纤维化等进程中高表达<sup>[6-7]</sup>, 敲除 matrilin-2 能够促进肝细胞癌的发生和发展, 过表达 matrilin-2 能够减轻肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 诱导的肝卵圆细胞凋亡<sup>[8]</sup>。本实验通过建立 APAP 小鼠药物性肝损伤模型, 探讨滨蒿内酯对 APAP 诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用, 并深入研究其是否通过影响 matrilin-2 的表达水平而发挥作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

C57BL/6 小鼠, 雄性, 体质量 ( $20 \pm 2$ ) g, 购于北京维通利华实验动物有限公司, 动物质量合格证许可证号 SCXK (京 2016-0008)。饲养于河南省人民医院实验动物中心 SPF 屏障环境中, 自由摄食, 进水, 室温控制在  $20 \sim 25$  °C。

### 1.2 主要试剂

APAP (产品批号 C10848088, 质量分数为 99%), *N*-乙酰-*L*-半胱氨酸 (NAC, 产品批号 C10848088, 质量分数为 99%) 和滨蒿内酯 (6, 7-二甲氧基香豆素, 产品批号 C10948734, 质量分数 98%) 均购自上海麦克林生化科技有限公司。BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号 P0012S)、MDA (货号 S0131S)、SOD (货号 S0103) 和 GSH (货号 0052) 检测试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司。TRIzol 试剂购自美国 Thermo Fisher 公司, TUNEL 试剂盒 (货号 11684817910) 购自美国罗氏公司。HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 逆转录试剂盒 (货号 Q331-02) 和 ChamQ SYBR qPCR Master

Mix (货号 Q331-02) 均购自南京诺唯赞生物科技有限公司。

### 1.3 分组及给药

将 30 只雄性 C57BL/6J 小鼠按体质量随机均分为对照组、模型组、NAC 组 ( $50 \text{ mg/kg}$ )<sup>[9]</sup> 和滨蒿内酯低、高剂量 ( $25$ 、 $50 \text{ mg/kg}$ )<sup>[4]</sup> 组, 共 5 组, 每组 6 只。每天 9:00~10:00 时连续 ig 给药 7 d, 其中对照组和模型组 ig 给予羧甲基纤维素钠 (CMC-Na)。最后 1 次给药后除对照组外其余组别小鼠参照参考文献建立过量 APAP 诱导的急性肝损伤模型<sup>[10]</sup>: 于 15:00 时开始禁食 16 h 后于次日 9:00 时 ip  $300 \text{ mg/kg}$  APAP, 对照组 ip 等体积 PBS, 给药体积均为  $20 \mu\text{L/g}$ 。24 h 后收集血清及肝脏样本。

### 1.4 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠肝功能指标的影响

小鼠麻醉后眼球采血,  $3000 \text{ r/min}$  离心 15 min 分离血清。采用微板法, 按照试剂盒说明书, 测定丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP) 等肝功能指标。用酶标仪检测 510 nm 处各孔的吸光度值, 根据标准曲线计算各组血清中 ALT、AST 和 ALP 水平。

### 1.5 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠抗氧化指标的影响

取小鼠肝组织置于生理盐水中匀浆后, 于  $4000 \text{ r/min}$   $4$  °C 离心 15 min, 收集上清液, 用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒定量蛋白浓度, 按照试剂盒说明书进行操作, 检测各组肝组织中丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽 (GSH) 水平。

### 1.6 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠肝组织病理的影响

取 4% 多聚甲醛中固定的小鼠肝脏组织, 切成  $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$  的立方块, 乙醇梯度脱水后, 二甲苯透明、浸蜡包埋。包埋好的蜡块, 置于切片机上作  $5 \mu\text{m}$  连续切片。贴于载玻片的切片经二甲苯脱蜡, 酒精梯度处理后, 执行 HE 染色程序。染色后的切片经酒精脱水和二甲苯透明后, 光学树脂封片, 于光学显微镜下观察肝脏组织病理改变并拍照。

### 1.7 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠肝细胞凋亡的影响

肝组织石蜡切片常规脱蜡至水化, 用  $20 \mu\text{g/mL}$  蛋白酶 K 进行细胞通透; 通透后经平衡液湿盒 30min; 加 TUNEL 反应混合液, rTdT - 生物素标记

的 dUTP - 平衡液 (1:1:98) 进行标记反应, 37 °C 恒温箱中孵育 90 min; 再加生理盐水枸橼酸钠 (SSC) 溶液终止反应, 以 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液进行封闭, 接着加辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的链霉亲和素孵育 30 min; 用二甲基联苯胺 (DAB) 法显色, 经苏木素染色、脱水、透明、封片。最后用光学显微镜观察凋亡情况。

### 1.8 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠 matrilin-2 蛋白表达水平的影响

将各组肝组织用 RIPA 裂解液充分匀浆后, 参照 BCA 试剂盒说明书的步骤, 测得各自总蛋白浓度。取 30 μg 蛋白样品, 进行 SDS-PAGE 电泳, 分离蛋白, 转移至 PVDF 膜, 用 5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 1 h 后, 用 3% BSA 1:1000 稀释 matrilin-2 和 β-actin 抗体, 4 °C 孵育过夜, TBST 溶液充分洗涤后, 加入羊抗兔二抗, 于室温中孵育 1 h, TBST 溶液充分洗涤, 用 ECL 化学发光液显色后采用凝胶成像系统拍照。

### 1.9 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠 matrilin-2 mRNA 表达水平的影响

取小鼠肝组织 100 mg, 用 1 mL TRIzol 充分裂解, 提取组织总 RNA。除去基因组 DNA 后, 按逆转录试剂盒说明书逆转录成 cDNA, RT-qPCR 按

SYBR 试剂盒说明书操作, PCR 反应采用系统。

Matn2 引物序列为: Forward: 5'-TCGGTCCTGATGTTACCCGAG-3', Reverse: 5'-GAGGGCATATTGGATGGCAAG-3'; GAPDH 引物序列为: Forward: 5'-AATGGATTTGGACGCATTGGT-3', Reverse: 5'-TTTGCACTGGTACGTGTTGAT-3'。

### 1.10 统计学方法

数据测定结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 21.0 软件进行数据处理, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠肝功能指标的影响

与对照组相比, 模型组血清 ALT、AST 和 ALP 水平显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 滨蒿内酯 25、50 mg/kg 组和 NAC 组血清 ALT、AST 和 ALP 水平均显著降低, 两组比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠抗氧化指标的影响

与对照组相比, 模型组小鼠 MDA 水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), SOD 和 GSH 水平显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 滨蒿内酯 25、50 mg/kg 组和 NAC 组 MDA 显著降低 ( $P < 0.05$ ), SOD 和 GSH 水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠 ALT、AST 和 ALP 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Table 1 Effects of scoparone on ALT, AST, and ALP levels in mice induced by APAP ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	剂量/(mg kg <sup>-1</sup> )	ALT/(U L <sup>-1</sup> )	AST/(U L <sup>-1</sup> )	ALP/(U L <sup>-1</sup> )
对照	—	34.12 ± 4.78	42.15 ± 4.12	31.25 ± 4.25
模型	—	769.28 ± 51.47*	895.15 ± 37.48*	748.69 ± 56.24*
NAC	50	375.25 ± 41.63 <sup>#</sup>	373.56 ± 48.59 <sup>#</sup>	314.25 ± 46.25 <sup>#</sup>
滨蒿内酯	25	517.56 ± 34.59 <sup>#</sup>	473.25 ± 28.98 <sup>#</sup>	547.88 ± 46.52 <sup>#</sup>
	50	354.12 ± 41.25 <sup>#</sup>	347.96 ± 49.54 <sup>#</sup>	323.86 ± 27.55 <sup>#</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group

表 2 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠 MDA、SOD 和 GSH 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Table 2 Effects of scoparone on MDA, SOD and GSH levels in mice induced by APAP ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	剂量/(mg kg <sup>-1</sup> )	MDA/(nmol mg <sup>-1</sup> )	SOD/(U mg <sup>-1</sup> )	GSH/(mg g <sup>-1</sup> )
对照	—	1.98 ± 0.21	397.25 ± 42.15	11.23 ± 1.25
模型	—	14.56 ± 3.76*	148.59 ± 14.79*	4.58 ± 0.86*
NAC	50	6.58 ± 1.48 <sup>#</sup>	248.56 ± 31.82 <sup>#</sup>	8.45 ± 1.17 <sup>#</sup>
滨蒿内酯	25	11.59 ± 2.48 <sup>#</sup>	198.69 ± 24.78 <sup>#</sup>	6.48 ± 0.88 <sup>#</sup>
	50	7.12 ± 2.58 <sup>#</sup>	261.47 ± 24.45 <sup>#</sup>	8.15 ± 0.73 <sup>#</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group

### 2.3 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠肝组织病理的影响

对照组小鼠肝小叶结构完整清晰,肝索排列整齐规则,肝细胞核居中界限明晰,肝细胞未见坏死及无炎性细胞浸润;模型组可见肝组织严重损伤,小叶中央肝细胞灶性或大面积坏死,肝细胞出现空泡,表明药物性肝损伤模型成功。与模型组比较,滨蒿内酯 25、50 mg/kg 组和 NAC 组小鼠肝脏病变显著改善,肝组织炎症浸润减轻,坏死灶面积显著减小,表明滨蒿内酯对 APAP 诱导的小鼠急性肝损伤具有保护作用,滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠肝组织病理的影响见图 1。

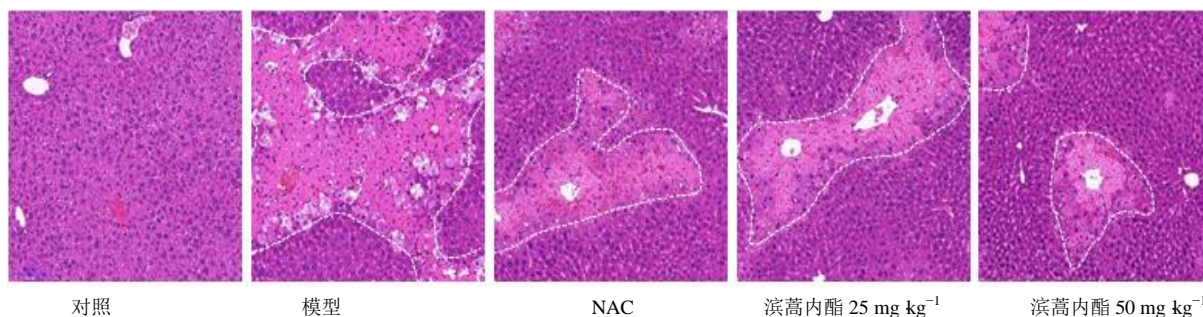


图 1 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠肝组织病理的影响 (100×)

Fig. 1 Effect of scaparon on liver pathomorphology of mice induced by APAP (100×)

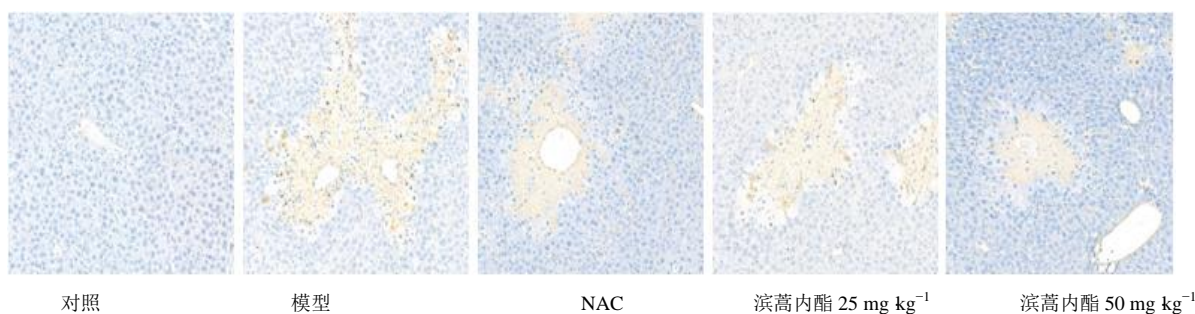


图 2 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠肝细胞凋亡的影响 (100×)

Fig. 2 Effect of scaparon on apoptosis of hepatocytes in mice induced by APAP (100×)

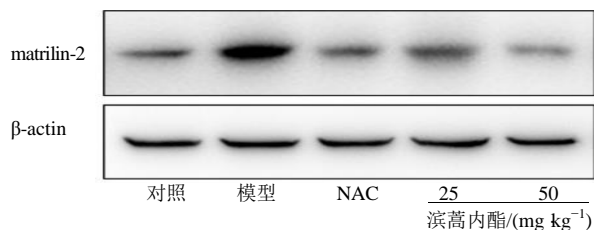


图 3 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠 matriline-2 蛋白表达水平的影响

Fig. 3 Effect of scaparon on expression of matriline-2 protein in mice induced by APAP

### 2.4 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠肝细胞凋亡的影响

与对照组相比,模型组肝组织坏死面积不断增大,凋亡细胞数量增加。与模型组相比,滨蒿内酯 25、50 mg/kg 组和 NAC 组凋亡细胞数显著减少,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 2。

### 2.5 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠 matriline-2 蛋白表达水平的影响

与对照组相比,模型组小鼠 matriline-2 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组相比,滨蒿内酯 25、50 mg/kg 组和 NAC 组 matriline-2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ ),见图 3 和表 3。

表 3 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠 matriline-2 蛋白表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Table 3 Effect of scaparon on expression of matriline-2 protein in mice induced by APAP ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	matriline-2蛋白相对表达水平
对照	—	1.00 ± 0.12
模型	—	5.73 ± 0.36*
NAC	50	1.67 ± 0.23 <sup>#</sup>
滨蒿内酯	25	3.01 ± 0.17 <sup>#</sup>
	50	0.98 ± 0.07 <sup>#</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group

## 2.6 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠 matrilin-2 mRNA 表达水平的影响

与对照组比较,模型组 matrilin-2 mRNA 表达水平显著升高,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ );与模型组比较,滨蒿内酯 25、50 mg/kg 组和 NAC 组 matrilin-2 mRNA 表达水平显著降低,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 4。

表 4 滨蒿内酯对 APAP 诱导小鼠 matrilin-2 mRNA 表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Table 4 Effects of scoparone on matrilin-2 mRNA levels in mice induced by APAP ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	matrilin-2 mRNA 相对表达水平
对照	—	1.00±0.09
模型	—	2.46±0.16*
NAC	50	1.38±0.08 <sup>#</sup>
滨蒿内酯	25	2.19±0.14 <sup>#</sup>
	50	1.47±0.08 <sup>#</sup>

与对照组比较: \* $P<0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P<0.05$

\* $P<0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P<0.05$  vs model group

## 3 讨论

APAP 是一种应用广泛的非处方 (OTC) 解热镇痛药,具有高治疗指数和安全性,可单独使用或与另一种药物联用。但是,急性或慢性服用过量均可导致严重的不良反应,包括肝、肾毒性<sup>[11]</sup>。APAP 在肝脏内主要经细胞色素 P450 进行代谢,然后进行葡萄糖醛酸化或硫酸化产生毒性较大的自由基代谢产物 *N*-乙酰对苯醌亚胺 (NAPQI),在体内还原性谷胱甘肽 (GSH) 等保护因子含量充足的情况下, NAPQI 与 GSH 结合而减毒,但在 GSH 耗竭时, NAPQI 会与细胞内其他重要的生物大分子结合而引起细胞氧化应激或坏死而导致肝损伤<sup>[12]</sup>。研究发现 APAP 所致肝损伤主要与氧化应激、诱导凋亡和坏死、引起炎症有关。目前临床上 APAP 中毒推荐应用特异解毒剂 NAC,并予常规全身支持治疗。NAC 由 *L*-半胱氨酸和乙酰基形成,是细胞内还原性谷胱甘肽的前体,其主要作用是补给外源性 GSH,抑制 NAPQI 分解产物的肝损伤。

Matrilin 是与细胞外基质 (ECM) 的组织相关的非胶原糖蛋白,可形成一个寡聚体细胞外衔接蛋白家族,在软骨组织中高表达。Matrilin 家族由 matrilin-1、-2、-3、-4 4 个成员组成<sup>[13]</sup>。Matrilin-2 由 matn2 基因编码,是一种分布广泛的细胞外基质蛋白,是 matrilin 家族最大的成员,也是唯一在肝

组织中表达的 matrilin<sup>[14-15]</sup>。Matrilin-2 参与胶原依赖性和胶原非依赖性丝状大分子网络的形成,具有连接功能,参与细胞外基质网络的形成、重塑和稳态。

近年来越来越多的研究表明 matrilin-2 参与了肝硬化和肝细胞癌的组织结构重组,损伤、周围神经反应过程中的角质形成细胞和成纤维细胞平衡<sup>[13]</sup>。此外,有研究表明在肝硬化和肝癌组织中,matrilin-2 的水平升高,并且 matrilin-2 可以抑制肝细胞癌的发生。敲除 matrilin-2 可通过激活 ERK1/2 和 GSK-3 $\beta$  信号通路促进肝癌的发生<sup>[7]</sup>。matrilin-2 在四氯化碳肝损伤小鼠肝组织中高表达,参与了肝细胞凋亡和纤维化的进程<sup>[6]</sup>。

滨蒿内酯又名 6,7-二甲氧基香豆素,是菊科陈蒿的主要成分,也来源于青蒿及石斛等,具有多种生物活性,在肝脏中主要作用为保肝利胆。研究表明滨蒿内酯具有抑制肝细胞、脂肪组织炎症、抵抗类因子介导的细胞毒性,及改善胰岛素抵抗、减轻氧化应激等作用<sup>[4, 16]</sup>。还可通过 FXR/BSEP 通路阻止胆总管结扎大鼠肝组织炎症发生,缓解其纤维化进展,改善肝内胆汁淤积症状<sup>[17]</sup>。

本研究观察了滨蒿内酯以及阳性对照药 NAC 改善 APAP 诱导的小鼠急性肝损伤的影响。结果发现,NAC 和滨蒿内酯能够显著降低 APAP 肝损伤小鼠的血清 ALT、AST 和 ALP 水平,降低 APAP 肝损伤小鼠肝脏组织 MDA 水平,上调 SOD、GSH 水平,改善小鼠肝组织病理学形态,减少凋亡细胞数,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。这表明滨蒿内酯能够改善 APAP 所诱导的小鼠急性肝损伤,保护肝功能。

为了探讨滨蒿内酯改善 APAP 诱导的小鼠急性肝损伤的分子机制,本研究分别用 Western blotting 和 RT-qPCR 检测了小鼠肝组织中 matrilin-2 的蛋白和 mRNA 表达水平。结果发现,与对照组比较,模型组小鼠肝组织中 matrilin-2 的蛋白和 mRNA 表达水平显著升高,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ );阳性药 NAC 和滨蒿内酯均能显著降低 matrilin-2 的蛋白和 mRNA 表达水平,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。以上结果提示,滨蒿内酯能够通过抑制肝组织 matrilin-2 的表达改善 APAP 诱导的小鼠急性肝损伤。

综上所述,滨蒿内酯能够改善 APAP 所引起的小鼠急性肝损伤,其作用机制可能与其抑制 matrilin-2 的有关。提示滨蒿内酯在保肝护肝方面具有潜在的应用价值,然而,目前滨蒿内酯的保肝作用机制尚未完全阐明,仍需进一步的探究。

## 参考文献

- [1] Mitchell R A, Rath S, Dahiya M, *et al.* Public awareness of acetaminophen and risks of drug induced liver injury: results of a large outpatient clinic survey [J]. *PLoS One*, 2020, 15: e0229070.
- [2] Chan A L, Liu W T, Lin S J, *et al.* Interaction between traditional Chinese medicine and Western medicine in rats--In-Chen-How and acetaminophen [J]. *Acta Pharm Sin*, 2007, 42(3): 342-346.
- [3] Yang D, Yang J, Shi D, *et al.* Scoparone potentiates transactivation of the bile salt export pump gene and this effect is enhanced by cytochrome P450 metabolism but abolished by a PKC inhibitor [J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 164(5): 1547-1557.
- [4] Liu B, Deng X, Jiang Q, *et al.* Scoparone alleviates inflammation, apoptosis and fibrosis of non-alcoholic steatohepatitis by suppressing the TLR4/NF-kappaB signaling pathway in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75: 105797.
- [5] Liu B, Deng X, Jiang Q, *et al.* Scoparone improves hepatic inflammation and autophagy in mice with nonalcoholic steatohepatitis by regulating the ROS/P38/Nrf2 axis and PI3K/AKT/mTOR pathway in macrophages [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 109895.
- [6] Hintermann E, Bayer M, Pfeilschifter J M, *et al.* Upregulation of matrilin-2 expression in murine hepatic stellate cells during liver injury has no effect on fibrosis formation and resolution [J]. *Liver Int*, 2015, 35(4): 1265-1273.
- [7] Fullar A, Baghy K, Deak F, *et al.* Lack of Matrilin-2 favors liver tumor development via Erk1/2 and GSK-3beta pathways *in vivo* [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93469.
- [8] Luo J, Peng S, Bai W, *et al.* Matrilin-2 prevents the TNFalpha-induced apoptosis of WB-F344 cells via suppressing JNK pathway [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2019, 66(3): 309-315.
- [9] Cui B W, Bai T, Yang Y, *et al.* Thymoquinone attenuates acetaminophen overdose-induced acute liver injury and inflammation via regulation of JNK and AMPK signaling pathway [J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(3): 577-594.
- [10] Li L, Wang H, Zhang J, *et al.* SPHK1 deficiency protects mice from acetaminophen-induced ER stress and mitochondrial permeability transition [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27: 1924-1937.
- [11] Fisher E S, Curry S C. Evaluation and treatment of acetaminophen toxicity [J]. *Adv Pharmacol*, 2019, 85: 263-272.
- [12] Kim R O, Jo M A, Song J, *et al.* Novel approach for evaluating pharmaceuticals toxicity using Daphnia model: analysis of the mode of cytochrome P450-generated metabolite action after acetaminophen exposure [J]. *Aquat Toxicol*, 2018, 196: 35-42.
- [13] Klatt A R, Becker A K, Neacsu C D, *et al.* The matrilins: modulators of extracellular matrix assembly [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43(3): 320-330.
- [14] Luo J, Wan Y. Tightly regulated distribution of family members of proteins is related to social property in the open body system (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2006, 17(3): 411-418.
- [15] Zhang S, Zhang M, Huang H, *et al.* High glucose-induced Matrilin-2 expression in mouse mesangial cells was mediated by transforming growth factor beta 1 (TGF-beta1) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 474(2): 303-308.
- [16] Liu X, Zhao X. Scoparone attenuates hepatic stellate cell activation through inhibiting TGF-beta/Smad signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 57-61.
- [17] 胡耀元, 李 朗, 丁华强, 等. 滨蒿内酯对胆总管结扎大鼠 FXR/BSEP 信号通路及肝内胆汁淤积的影响 [J]. *重庆医学*, 2020, 49(10): 1570-1574.