

积雪草苷对代谢相关脂肪性肝病大鼠 Nrf2、ROS 通路表达的影响

王迎迎, 顾永政*

宿迁市第一人民医院 药学部, 江苏 宿迁 223800

摘要: **目的** 探究积雪草苷对代谢相关脂肪性肝病大鼠核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)、活性氧 (ROS) 通路表达的影响。**方法** 将大鼠随机分为对照组、模型组、积雪草苷 (5、15、30 mg/kg) 组、双环醇组, 每组 10 只。除对照组外其余均建立脂肪肝模型, 对照组与模型组给予 ig 10 mL/kg 生理盐水, 积雪草苷 (5、15、30 mg/kg) 组分别 ig 5、15、30 mg/kg 积雪草苷, 双环醇组 ig 20 mg/kg 双环醇, 1 次/d, 连续 4 周。采用 ELISA 检测丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 水平及总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG) 含量, 荧光探针 - 二氢乙啶 (DHE) 法检测 ROS 水平, 苏木精 - 伊红 (HE) 染色观察病理组织, 免疫印迹和 PCR 分别检测 Nrf1、Nrf2 蛋白及 mRNA 相对表达量。**结果** 与模型组比较, 积雪草苷 15、30 mg/kg 组 ALT、AST、TC、TG、ROS 水平显著降低, *Nrf1*、*Nrf2* mRNA 及蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$), 对照组大鼠肝脏组织结构完好; 积雪草苷 15、30 mg/kg 组及双环醇组大鼠肝细胞脂肪变性有所减轻, 汇管区见少量炎细胞浸润。**结论** 积雪草苷可降低代谢相关脂肪性肝病大鼠血清 ALT、AST、TC、TG 水平, 并抑制 ROS 增长, 其机制可能与激活 Nrf1、Nrf2 相关。

关键词: 积雪草苷; 代谢相关脂肪性肝病; 丙氨酸氨基转移酶; 天冬氨酸氨基转移酶; 核因子 E2 相关因子 2; 活性氧

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2024)04-0810-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.04.002

Effects of asiaticoside on Nrf2 and ROS pathway expression in rats with metabolically associated fatty liver disease

WANG Yingying, GU Yongzheng

Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Suqian, Suqian 223800, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of asiaticoside on Nrf2 and ROS pathway expression in rats with metabolically associated fatty liver disease. **Methods** Rats were randomly divided into control group, model group, asiaticoside (5, 15, 30 mg/kg) group, and bicyclic alcohol group, with 10 rats in each group. Control group and model group were ig 10 mL/kg normal saline, asiaticoside (5, 15, 30 mg/kg) group were ig 5, 15, 30 mg/kg asiaticoside, bicyclic alcohol group were ig 20 mg/kg bicyclic alcohol group, once daily for 4 weeks. ELISA was used to detect ALT, AST, TC, and TG, fluorescent probe dihydroethidine (DHE) method was used to detect ROS, and HE staining was used to observe the pathological tissue. The relative expression levels of Nrf1 and Nrf2 protein and mRNA were detected by Western blotting and PCR respectively. **Results** Compared with model group, ALT, AST, TC, TG and ROS in 15 and 30 mg/kg asiaticoside groups were significantly decreased, while *Nrf1* and *Nrf2* mRNA and protein were significantly increased ($P < 0.05$). The liver structure of control group was intact. The hepatocyte steatosis of 15, 30 mg/kg asiaticoside group and dicyclol group was reduced, and a small amount of inflammatory cell infiltration was observed in the sink area. **Conclusion** Asiaticoside can reduce the levels of ALT, AST, TC, and TG in serum of rats with metabolism-related fatty liver disease, and inhibit the growth of ROS, which may be related to the activation of Nrf1 and Nrf2.

Key words: asiaticoside; metabolically associated fatty liver disease; ALT; AST; Nrf2; ROS

代谢相关脂肪性肝病可由遗传、环境、代谢应激等多种相关因素所致, 是以肝细胞内脂肪堆积为主的病理综合征^[1]。近年来, 随着社会经济发展和

人们生活水平的不断提高, 代谢相关脂肪性肝病的患病率逐渐增高, 并且已经成为威胁人们健康的重要肝病之一^[2]。中医认为, 脂肪肝的产生是由于过

收稿日期: 2023-12-22

作者简介: 王迎迎, 女, 本科, 研究方向为肝病。E-mail: fan356634@163.com

*通信作者: 顾永政, 男, 研究方向为代谢疾病。E-mail: 849742081@qq.com

食肥甘厚味或情志失调等因素引起的肝失疏泄、脾失健运、痰瘀互结、聚滞为积等，终致积滞之实^[3]。如不进行及时治疗，严重者可发展成为肝纤维化、肝硬化等恶性疾病，严重威胁生命健康。积雪草是伞形科植物，始载于《神农本草经》，具有清热解毒、消肿止痛等功效。其组成中含有积雪草苷、积雪草二酸、羟基积雪草苷等多种化学成分，其中积雪草苷是最为主要的活性成分之一^[4]。近年来相关研究发现，积雪草苷不仅具有抗肿瘤、抗抑郁、抑菌、抗肝纤维化等多种生物活性，还对改善肝脏等多种器官功能具有一定作用，但对于代谢相关脂肪性肝病作用的机制现阶段还鲜见报道^[5]。在代谢相关脂肪性肝病形成过程中，氧化应激和脂质过氧化起着非常重要的作用，可在胰岛素抵抗基础上产生的氧化应激和脂质过氧化，因为整个过程中产生过多的活性氧簇（ROS）等可引起细胞炎症，导致肝脂肪沉积加重^[6]。核因子 E2 相关因子 2（Nrf2）信号通路可减少高糖环境下活性氧的产生，发挥其抗氧化应激损伤的作用，并在相关病变的防治中具有重要意义，但对于其在代谢相关脂肪性肝病中的作用机制的研究较少，仍需进一步探究^[7]。本研究探究了积雪草苷对代谢相关脂肪性肝病大鼠 Nrf2、ROS 的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取 60 只健康雄性大鼠，4~6 月龄，体质量 150~200 g，由湖南医科大学动物学部提供，使用许可证号 SCXK(湘)2019-0035，所有大鼠均在南方医院肺病中心实验室饲养，饲养温度为 20~25℃，相对湿度 40%~60%，日常光照，自由饮食饮水。动物实验经本院动物实验伦理委员会批准（批准号 HNZZY-2019007）。

1.2 实验试剂与仪器

积雪草苷（上海源叶生物科技有限公司，质量分数≥98%，货号 B20586-20mg）；双环醇片（北京协和药厂，规格 25 mg/片，批号 J722029）；抗体 Nrf1（上海康朗生物科技有限公司，货号 kl669Ra21）；Nrf2、辣根过氧化物酶标记抗兔 IgG（上海彩佑实业有限公司，货号 52179R、C-8255）；柠檬酸缓冲液（深圳海思安生物技术有限公司，货号 JPH233）；PCR 试剂盒（北京伊塔生物科技有限公司，货号 YT9033）；苏木精-伊红（HE）染色试剂盒（北京索莱宝科技有限公司，货号 G1120）。

1.3 模型建立

代谢相关脂肪性肝病大鼠模型建立依据文献报道^[8]，采用高脂饲料（80%基础饲料+10%猪油+5%蛋黄粉+1%胆固醇）喂养大鼠，并造模后第 1 天 ip 四环素 5 mg/100 g，后以 10 mg/100 g，每 6 天 ip 1 次，共 6 次，期间称质量并调整药量，高脂饮食持续 4 周。建模后用油红 O 染色观察肝组织脂滴分布，取 5 μm 肝脏切片，每张切片随机取 5 个视野，采用 Image-Pro plus6.0 图像分析，以肝脏边界圆钝、包膜紧张、切面油腻、体积增加、淡黄色视为建模成功。

1.4 分组与给药

将所有大鼠分为对照组、模型组、积雪草苷（5、15、30 mg/kg）组、双环醇组，每组 10 只。除对照组外均建立代谢相关脂肪性肝病大鼠模型，建模成功后，对照组与模型组 ig 10 mL/kg 生理盐水，1 次/d；参考《中药药理研究方法学》^[9]中方法根据人和大鼠的计量折算系数确定所给药量，积雪草苷（5、15、30 mg/kg）组分别 ig 5、15、30 mg/kg 积雪草苷，1 次/d。双环醇组 ig 20 mg/kg 双环醇，均连续干预 4 周。

1.5 方法与检测

1.5.1 ELISA 检测大鼠血清中天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、三酰甘油（TG）、总胆固醇（TC）水平 大鼠麻醉后抽取腹部静脉血 1 mL，5℃，3 000 r/min 离心 15 min，取上清液，检测 ALT、AST、TC、TG 水平，操作步骤严格按照说明书标准进行测定。

1.5.2 荧光探针-二氢乙啶（DHE）法检测 ROS 表达 待大鼠麻醉后处死打开腹腔，在肝脏最大叶距边缘取肝组织，低温预冷后 10 μm 切片，将稀释液滴于组织，常温孵育，洗涤，荧光显微镜下拍摄图像，红色为阳性细胞，用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件计算平均吸光度（A）值。

1.5.3 HE 染色 取大鼠肝组织 10%甲醛固定、脱水、透明、浸蜡、包埋、3 μm 切片并烘干后，加二甲苯、无水酒精，脱蜡，梯度乙醇，蒸馏水浸泡 3 min，HE 染色，风干后中性树胶封片，光学显微镜下观察拍照。

1.5.4 免疫印迹检测 Nrf1、Nrf2 蛋白表达 取肝组织裂解后提取蛋白质并测定含量，电泳，移膜，5℃封闭过夜，加兔抗鼠一抗 Nrf1（1：5 000）、Nrf2（1：4 000）、β-actin（1：2 000）孵育 1 h，洗涤，辣根

过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG (1 : 5 000) 孵育 1 h, 洗涤, 曝光, 显影, 获取图象。

1.5.5 PCR 检测 *Nrf1*、*Nrf2* mRNA 表达 将肝组织研磨匀浆后提取总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 以 β -actin 为内参进行 PCR 扩增, 70 $^{\circ}\text{C}$ 、5 min, 85 $^{\circ}\text{C}$ 、3 min, 65 $^{\circ}\text{C}$ 、3 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 65 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 15 s, 循环 30 次, 以 β -actin 为内参, 实时荧光定量 PCR 仪测量基因表达, 计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值, 见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequence

引物	序列
Nrf1	正向: 5'-CTTATTGAGTGGTTCTGGGTGT-3'
	反向: 5'-TCCTCTTCCCTTTCTCTTGTTC-3'
Nrf2	正向: 5'-ATTGTGCTTGTGAGGGTGTTC-3'
	反向: 5'-CCCTTCCTGTCTTTTCTCTCTCT-3'
β -actin	正向: 5'-CTTTCACAGCGACTCCAGG-3'
	反向: 5'-TGGTCGATGCTCACACGAAG-3'

表 2 各组大鼠血清中 ALT、AST、TC、TG 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)
Table 2 Levels of ALT, AST, TC, and TG in serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	36.25 ± 5.12	44.06 ± 6.26	1.09 ± 0.08	0.11 ± 0.03
模型	—	67.02 ± 17.39*	85.03 ± 19.28*	3.22 ± 0.25*	0.35 ± 0.11*
积雪草苷	5	66.88 ± 17.40	84.86 ± 19.25	3.20 ± 0.24	0.34 ± 0.10
	15	55.61 ± 11.19#	63.42 ± 12.19#	2.45 ± 0.18#	0.20 ± 0.08#
	30	47.45 ± 8.21#&	51.71 ± 9.62#&	1.66 ± 0.13#&	0.17 ± 0.05#&
双环醇	20	56.59 ± 11.20#@	62.40 ± 12.20#@	2.44 ± 0.17#@	0.21 ± 0.08#@

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与积雪草苷 15 mg·kg⁻¹ 组比较: & $P < 0.05$; 与积雪草苷 30 mg·kg⁻¹ 组比较: @ $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; & $P < 0.05$ vs asiaticoside 15 mg·kg⁻¹ group; @ $P < 0.05$ vs asiaticoside 30 mg·kg⁻¹ group.

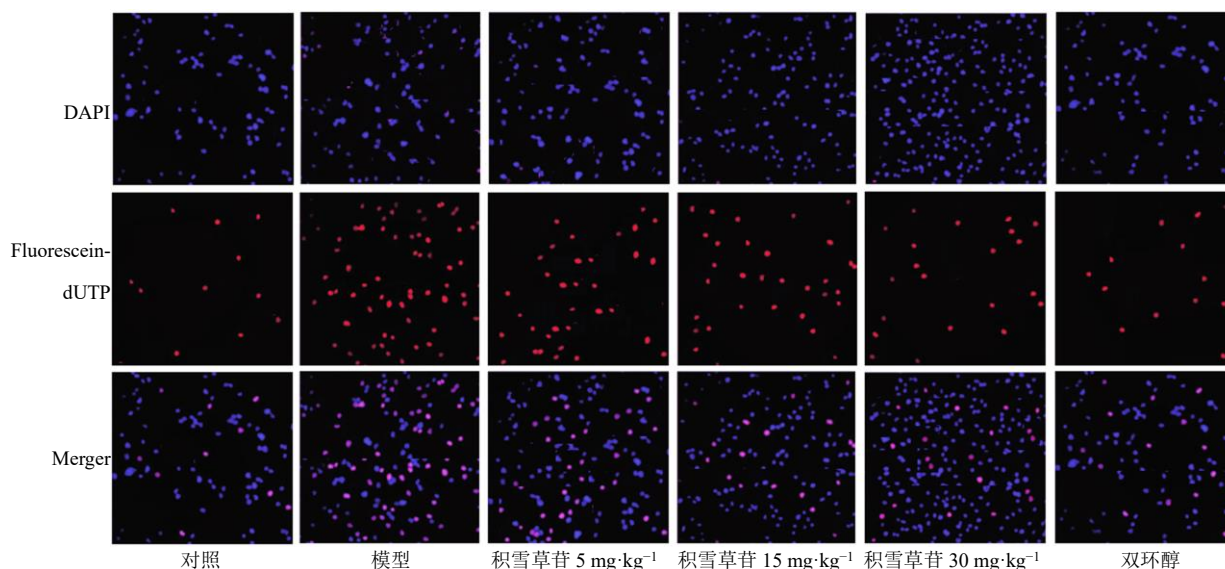


图 1 各组 ROS 表达 (DHE)

Fig. 1 ROS expression in each group (DHE)

1.6 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8.0 软件统计分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠血清中 ALT、AST、TC、TG 水平

与模型组比较, 积雪草苷 15、30 mg/kg 组大鼠 ALT、AST、TC、TG 水平显著降低 ($P < 0.05$); 积雪草苷 15 mg/kg 组与双环醇组血清中 ALT、AST、TC、TG 水平无显著差异, 见表 2。

2.2 各组 ROS 荧光表达

与模型组比较, 积雪草苷 15、30 mg/kg 组 ROS 荧光表达显著降低 ($P < 0.05$), 而积雪草苷 15 mg/kg 组与双环醇组 ROS 荧光表达比较显著无差异, 见图 1、表 3。

2.3 各组大鼠肝组织 HE 染色表达

对照组大鼠肝脏组织结构完整, 肝细胞排列整齐, 小叶结构完好, 呈放射状分布, 细胞核位于中

表 3 各组 ROS 荧光表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)
Table 3 ROS expression in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ROS
对照	—	54.02 ± 4.78
模型	—	86.75 ± 20.13*
积雪草苷	5	85.69 ± 19.68
	15	77.12 ± 13.23 [#]
	30	65.43 ± 9.55 ^{#&}
双环醇	20	76.89 ± 13.22 ^{#@}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与积雪草苷 15 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$; 与积雪草苷 30 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs asiaticoside 15 mg·kg⁻¹ group; [@] $P < 0.05$ vs asiaticoside 30 mg·kg⁻¹ group.

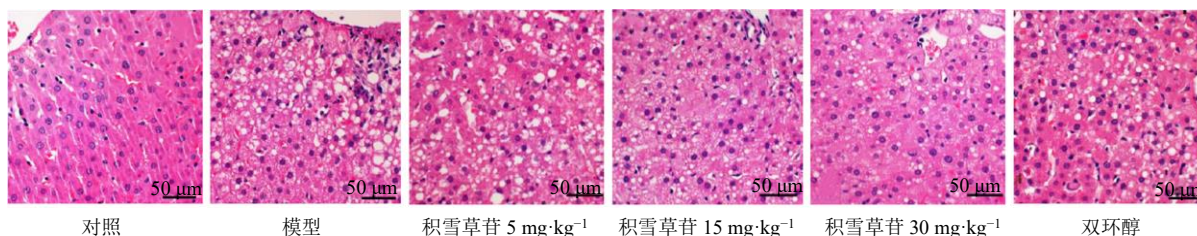


图 2 HE 染色结果 (HE, ×200)

Fig. 2 Result of HE staining (HE, ×200)

2.4 各组大鼠肝组织中 Nrf1、Nrf2 mRNA 表达

与模型组比较, 积雪草苷 15、30 mg/kg 组大鼠肝组织中 Nrf1、Nrf2 mRNA 表达量显著升高 ($P < 0.05$), 而积雪草苷 15 mg/kg 组与双环醇组肝组织中 Nrf1、Nrf2 mRNA 表达量无显著差异, 见表 4。

表 4 各组大鼠肝组织中 Nrf1、Nrf2 mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 4 mRNA expression of Nrf1 and Nrf2 in liver tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	mRNA 相对表达量	
		Nrf1	Nrf2
对照	—	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型	—	0.11 ± 0.03*	0.17 ± 0.05*
积雪草苷	5	0.12 ± 0.03	0.18 ± 0.05
	15	0.40 ± 0.15 [#]	0.49 ± 0.19 [#]
	30	0.58 ± 0.29 ^{#&}	0.69 ± 0.30 ^{#&}
双环醇	20	0.42 ± 0.16 ^{#@}	0.50 ± 0.19 ^{#@}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与积雪草苷 15 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$; 与积雪草苷 30 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs asiaticoside 15 mg·kg⁻¹ group; [@] $P < 0.05$ vs asiaticoside 30 mg·kg⁻¹ group.

2.5 各组大鼠肝组织中 Nrf1、Nrf2 蛋白表达

与模型组比较, 积雪草苷 15、30 mg/kg 组大鼠肝组织中 Nrf1、Nrf2 蛋白相对表达量显著升高

央, 胞浆分布均匀, 无细胞坏死、脂肪变性和炎症现象; 模型组、积雪草苷 5 mg/kg 组大鼠肝脏组织肝组织空泡样脂肪变性明显, 脂肪含量增多, 细胞间排列紊乱, 胞浆内存在大量脂肪及炎性细胞浸润; 积雪草苷 15 mg/kg 组、双环醇组大鼠肝细胞脂肪变性有所减轻, 细胞排列稍显紊乱, 其中散在少数炎细胞, 汇管区见少量炎细胞浸润; 积雪草苷 30 mg/kg 组大鼠肝脏的脂肪蓄积降低、脂肪细胞变小, 细胞排列稍显不整齐, 其中个别炎细胞散落, 脂肪浸润明显改善, 见图 2。

($P < 0.05$); 而积雪草苷 15 mg/kg 组与双环醇组肝组织中 Nrf1、Nrf2 蛋白表达量比较无显著差异, 见图 3、表 5。

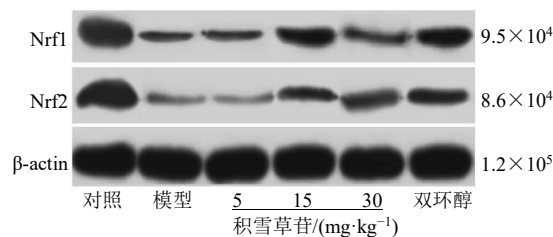


图 3 各组 Nrf1、Nrf2 蛋白相对表达量

Fig. 3 Nrf1 and Nrf2 protein expression in each group

表 5 各组大鼠肝组织中 Nrf1、Nrf2 蛋白相对表达量 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 5 Nrf1 and Nrf2 protein expression in liver tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	蛋白相对表达量	
		Nrf1	Nrf2
对照	—	3.82 ± 0.43	3.91 ± 0.52
模型	—	0.21 ± 0.06*	0.25 ± 0.05*
积雪草苷	5	0.22 ± 0.05	0.26 ± 0.04
	15	1.73 ± 0.22 [#]	2.01 ± 0.25 [#]
	30	2.79 ± 0.34 ^{#&}	3.11 ± 0.39 ^{#&}
双环醇	20	1.75 ± 0.21 ^{#@}	2.02 ± 0.26 ^{#@}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与积雪草苷 15 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$; 与积雪草苷 30 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs asiaticoside 15 mg·kg⁻¹ group; [@] $P < 0.05$ vs asiaticoside 30 mg·kg⁻¹ group.

3 讨论

代谢相关脂肪性肝病的发生与高血压高脂血症、肥胖、胰岛素抵抗、药物损害、代谢综合征和遗传易感性等多种因素密切相关。据统计,约 25% 的代谢相关脂肪性肝病患者会产生疲乏感,如不及时治疗较易发展成中度或重度代谢相关脂肪性肝病,并导致患者肝区隐痛、全身乏力、腹泻等严重不良反应产生,继而影响患者的正常生活^[9]。中医药在辅助治疗该病方面取得一定进展^[10]。

肝部疾病发生时,血清中 ALT、AST、TC、TG 均与疾病的发生发展存在一定的相关性,其过量的表达可造成组织及细胞的损伤,进而促进疾病的发展^[11]。本研究中,与模型组相比,积雪草苷 15、30 mg/kg 组及双环醇组以上指标均显著降低 ($P < 0.05$),表示积雪草苷对于降低代谢相关脂肪性肝病大鼠血清中 ALT、AST、TC、TG 指标具有一定影响。相关研究表示,在脂肪肝发生时组织中炎症反应被激活,使合成胆固醇的各个环节均可发生障碍,导致 ALT、AST、TC、TG 等血清胆固醇指标的合成显著升高,干扰了肝脏内脂类代谢,并为脂肪肝的脂质过氧化形成反应提供了足够的反应基质,导致了肝细胞进一步坏死、凋亡,使得肝损伤程度加重^[12]。积雪草为伞形科鸡血草属植物,用于疾病的治疗已有 2000 多年历史。主治湿热黄疸、中暑腹泻、砂淋血淋、痈肿疮毒、跌扑损伤,具有良好的降低血糖、改善胰岛素抵抗、清热解毒、利湿消肿等功效^[13]。植物化学研究中发现,积雪草的全草主要化学成分为 B-谷甾醇、胡萝卜苷、积雪草酸、香草酸和积雪草苷。积雪草苷为积雪草提取物中三萜皂苷的主要成分之一^[14]。现代药理研究表示,积雪草苷具有较强的药理活性,可促进伤口愈合、刺激生物合成、抗溃疡、抗炎、抗肿瘤、抗抑郁等多种药理学作用,还对麻风杆菌、结核杆菌感染有一定治疗作用,临床上常用于慢性炎症、皮肤病等多种疾病的治疗^[15]。但对于积雪草苷在代谢相关脂肪性肝病疾病中治疗的作用机制目前研究较少,仍需进一步探究。赵嗣霞等^[16]在积雪草苷抗大鼠免疫性肝纤维化作用研究中表示,积雪草苷在肝损伤中可能通过抑制肝组织中一氧化氮(NO)合成酶的活性,抑制肝细胞中鸟苷酸环化酶等因子的转化,并通过抑制其与合成酶、水解酶等的动态表达,降低组织内 ALT、AST、TC、TG 等因子水平。由此推测,积雪草苷在治疗代谢相关脂肪性肝病中可能通过增

加大鼠体内对胰岛素的敏感性、减少脂肪堆积,从而降低血脂沉积、改善肝功能,抑制脂肪肝的发展。

ROS 作为氧化酶合成的效能产物,具有较强的氧化攻击性,在疾病中可直接损伤细胞膜、细胞器及重要的蛋白信号因子,造成细胞膜和细胞膜脂质的过氧化导致肝损伤加剧^[17]。本研究中,与模型相比,积雪草苷 15、30 mg/kg 组及双环醇组 ROS 显著降低 ($P < 0.05$),表示积雪草苷对于抑制代谢相关脂肪性肝病大鼠 ROS 表达具有积极作用。相关研究表示,氧化应激和脂质过氧化是由多种原因引起脂肪肝形成和进展的共同机制。脂质过氧化不仅可对肝脏脂类代谢进行干扰还造成过度脂质沉积及过氧化。ROS 升高可使脂质过氧化物及终产物含量增加,导致肝组织抗氧化能力减弱。因此,抑制 ROS 活性并使其消耗增多对于脂肪肝疾病的治疗至关重要^[18]。积雪草苷能够抑制氧自由基的产生,促使病灶部位产生大量的谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等清除剂。积雪草苷通过下调 NOX4 及相关合成酶的表达减少 ROS 的生成,降低肝脏氧化应激和炎症、过氧化反应,增加肝组织抗氧化能力,抑制脂质过氧化物终产物,平衡肝内脂类代谢,减缓脂肪肝损伤程度^[19]。

Nrf1、Nrf2 不仅可在脏器、肠道等组织细胞中有所表达,还可参与氧化应激调节过程^[20]。本研究中,与模型组相比,积雪草苷 15、30 mg/kg 组及双环醇组 Nrf1、Nrf2 蛋白和 mRNA 相对表达量显著升高 ($P < 0.05$),表示积雪草苷对于增加代谢相关脂肪性肝病大鼠肝组织中 Nrf1、Nrf2 具有积极作用。Nrf2 是抗氧化机制的中心关键因子,同时也是肝胆中相关转运蛋白的关键调节器。Chowdhry 等^[21]在用缺乏蛋氨酸和胆碱的食物喂养缺乏 Nrf2 的小鼠实验中表示,Nrf2 缺乏的小鼠肝组织中有更多大小水泡样脂肪变性及中性粒细胞多晶型物,且炎症反应更重,肿瘤坏死因子、环氧酶及诱导 NO 合酶也大幅升高,可加重代谢相关脂肪性肝病的肝损伤。该结果与本文研究相类似。由此推测,积雪草苷可能在与抗氧化因子结合的过程中激活了 Nrf1、Nrf2,并在过程中通过调节抗氧化反应元件从而启动肝细胞抗氧化应激、脂质过氧化的保护机制。

综上所述,积雪草苷对代谢相关脂肪性肝病大鼠具有一定的保护作用,该作用可能与降低 ALT、AST、TC、TG 表达,抑制 ROS 表达,增加 Nrf1、Nrf2 的表达具有一定相关性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王琦, 谢雯. 非酒精性脂肪性肝病临床研究的热点及难点 [J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(1): 1-3.
- [2] 谢美莲, 张志云, 张海霞, 等. 非酒精性脂肪性肝病人群护理健康管理模式的研究进展 [J]. 中华现代护理杂志, 2020, 26(26): 3576-3581.
- [3] 左瑞菊, 马万千, 邹济源. 马万千老中医化痰祛瘀方治疗痰瘀互结型非酒精性脂肪肝疗效评价研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(2): 25-28.
- [4] 李季, 崔兵兵, 曲远均. 积雪草药理活性及新制剂研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(12): 200-204.
- [5] 秦慧真, 林思, 邓玲玉, 等. 积雪草苷的药理作用及机制研究进展 [J]. 中国药房, 2021, 32(21): 2683-2688.
- [6] 陈烁, 温伟波, 房昉, 等. 基于 ROS 探讨健肝消脂方改善非酒精性脂肪性肝病的机制 [J]. 四川中医, 2020, 38(2): 55-58.
- [7] 杨义辉, 王海英. 转录因子 NF-E2 相关因子 2-抗氧化反应元件通路在抗心肌再灌注损伤中的作用 [J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2012(2): 103-106.
- [8] 张霖, 陈育尧, 孙学刚, 等. 虎杖苷对非酒精性脂肪肝大鼠保护作用及机制研究 [J]. 陕西中医, 2010, 31(6): 756-758.
- [9] 陈奇. 中药药理研究方法学 (第2版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [10] 高风, 郭丽君, 黄萍萍, 等. 清热利湿类中成药治疗非酒精性脂肪性肝病的网状 Meta 分析 [J]. 中草药, 2023, 54(22): 7511-7525.
- [11] 李月, 李锐, 何平, 等. 二甲双胍与吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病疗效的 Meta 分析 [J]. 西部医学, 2017, 29(1): 97-102.
- [12] 田霜, 刘海林, 钟雪晴. 血清纤溶酶原激活物抑制剂 1 水平对非酒精性脂肪性肝病的诊断价值 [J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(6): 585-588.
- [13] 张敏, 谢圣芳, 胡泳, 等. 积雪草在肾脏病领域的临床应用和机制探讨 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2021, 22(4): 375-376.
- [14] 欧阳丹薇, 邵燕, 孔德云, 等. 积雪草总苷及其化学成分对瘢痕成纤维细胞增殖的抑制作用 [J]. 世界临床药物, 2014, 35(4): 215-220.
- [15] 杨祥伟, 连福明. 羟基积雪草苷的药理学作用及机制研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(7): 891-896.
- [16] 赵嗣霞, 张如松, 杨苏蓓. 积雪草苷抗大鼠免疫性肝纤维化作用研究 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 666-670.
- [17] Ma Z H, Zhang Y M, Li Q C, *et al.* Resveratrol improves alcoholic fatty liver disease by downregulating HIF-1 α expression and mitochondrial ROS production [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): 183426.
- [18] 杨朝霞, 代东伶, 沈薇. 解偶联蛋白 2 在非酒精性脂肪肝中的作用探讨 [J]. 国外医学: 消化系疾病分册, 2004(4): 221-224.
- [19] 黄强, 朱小区, 吴春明, 等. 积雪草苷对非酒精性脂肪肝大鼠氧化应激的影响 [J]. 江苏中医药, 2016, 48(3): 81-83.
- [20] Katsuoka F, Yamazaki H, Yamamoto M. Small Maf deficiency recapitulates the liver phenotypes of Nrf1- and Nrf2-deficient mice [J]. *Genes Cells*, 2016, 21(12): 1309-1319.
- [21] Chowdhry S, Nazmy M H, Meakin P J, *et al.* Loss of Nrf2 markedly exacerbates nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48(2): 357-371.

[责任编辑 高源]