

• 实验研究 •

α -香附酮介导 Nrf2/HO-1 通路改善小鼠急性肝损伤的作用机制

刘俊彤¹, 杨简宁², 胡婧妍¹, 史悦然¹, 隋宇鹏¹, 尉荣洋¹, 廖婉^{3*}, 高天慧^{1*}

1. 齐鲁医药学院, 山东 淄博 255300

2. 四川大学 华西药学院, 四川 成都 610041

3. 成都中医药大学 药学院 (中药种质资源创新与高效利用实验室, 西南特色中药资源国家重点实验室, 中药材标准化教育部重点实验室), 四川 成都 611137

摘要: **目的** 探讨 α -香附酮对急性肝损伤的保护作用, 并基于核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)/血红素加氧酶-1 (HO-1) 通路阐明其作用机制。**方法** 将 C57BL/6 小鼠分为对照组、模型组、 α -香附酮 (85 mg/kg) 组, 每组 8 只。测定小鼠血清天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 及肝组织中总超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-6 水平, 观察肝组织病理变化; 通过免疫荧光及 Western blotting 检测 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达。**结果** α -香附酮能显著降低肝损伤小鼠血清 ALT、AST 水平及 MDA、IL-1 β 、IL-6 含量显著降低, SOD 含量显著升高 ($P < 0.01$); α -香附酮组小鼠肝脏上述病理形态有较明显改善, 肝小叶结构较为清晰完整, 胞质间不规则空洞减少, 少见明显炎症细胞浸润。与模型组比较, α -香附酮组中的 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** α -香附酮可能通过激活 Nrf2/HO-1 通路改善肝损伤。

关键词: α -香附酮; 肝损伤; 核因子 E2 相关因子 2; 血红素加氧酶-1; 天门冬氨酸氨基转移酶; 丙氨酸氨基转移酶; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 白细胞介素-1 β

中图分类号: R285.5; R286.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2026)07-1923-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.07.008

Mechanism of α -cyperone in alleviating acute liver injury via Nrf2/HO-1 pathway

LIU Juntong¹, YANG Jianning², HU Jingyan¹, SHI Yueran¹, SUI Yupeng¹, YU Rongyang¹, LIAO Wan³, GAO Tianhui¹

1. Qilu Medical University, Zibo 255300, China

2. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China

3. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To investigate the protective effect of α -cyperone on acute liver injury, and elucidate its mechanism based on the Nrf2/HO-1 pathway. **Methods** The C57BL/6 mice were divided into the control group, the model group, and the α -cyperone (85 mg/kg) group, with 8 mice in each group. Determine the levels of serum AST, ALT, and SOD, MDA, IL-1 β , and IL-6 in liver tissue, and observe the pathological changes of liver tissue. The expression of Nrf2 and HO-1 proteins was detected by immunofluorescence and Western blotting. **Results** α -Cyperone can significantly reduce the levels of ALT and AST in the serum of mice with liver injury, as well as the contents of MDA, IL-1 β , and IL-6, and significantly increase the content of SOD ($P < 0.01$). The pathological morphology of the liver in the α -cyperone group showed a more obvious improvement. The liver lobule structure was clearer and more complete,

收稿日期: 2026-04-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82505032); 国家中医药管理局监测统计中心中医药监测统计研究课题 (2025JCTJA16); 山东省青年研究课题大学生专项课题 (WL-SQD25064); 2024 年齐鲁医药学院校级青年创新团队 (X2024QCTD02); 中医药标准化能力提升项目-中医药国际标准关键技术攻关(香附) (600038251005)

作者简介: 刘俊彤, 女, 本科, 专业方向为中药学。E-mail: 18266730985@163.com

***通信作者:** 廖婉, 女, 博士, 教授, 研究方向为中药炮制原理及中药新剂型研究。E-mail: liaowan@cdutcm.edu.cn

高天慧, 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药炮制机制及新制剂研究。E-mail: gaotianhui@qlmu.edu.cn

the irregular cavities between the cytoplasm were reduced, and obvious inflammatory cell infiltration was rarely observed. Compared with the model group, the protein expressions of Nrf2 and HO-1 in the α -cyperone group were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$).

Conclusion α -Cyperone may improve liver damage by activating the Nrf2/HO-1 pathway.

Key words: α -cyperone; liver injury; Nrf2; HO-1; AST; ALT; SOD; MDA; IL-1 β

肝损伤是多种肝病初期的共有病理状态,氧化应激与炎症反应在其发生发展中起关键作用^[1]。核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)/血红素加氧酶-1 (HO-1) 通路是机体抗氧化炎症损伤的关键防御体系^[2],可通过抑制铁死亡、炎症,调控细胞焦亡、自噬缓解肝损伤^[3]。硫代乙酰胺是目前广泛使用的肝损伤化学诱导剂,其诱导的肝脏病理变化与多种病因引起的人类肝病高度相似,能够模拟从急性肝坏死到慢性肝纤维化、肝硬化的全过程,被广泛用于肝损伤机制研究和药物评价^[4-5]。香附来源于莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎,具有疏肝解郁、理气止痛之功效^[6-8]。 α -香附酮是从香附中分离出一种天然倍半萜类化合物,是其挥发油中的主要活性成分之一^[9]。现代药理研究表明, α -香附酮具有抗炎、抗氧化、神经保护等多种生物活性^[10-12]。本课题组前期研究发现,香附经醋制后,其 α -香附酮质量分数由 0.26 mg/g 显著提升至 1.04 mg/g,且醋制品对硫代乙酰胺诱导的急慢性肝损伤具有更好的保护作用^[13]。目前已有文献报道 α -香附酮通过激活 Nrf2/HO-1 通路发挥抗氧化和抗炎作用^[14-15]。表明 Nrf2/HO-1 通路可能是 α -香附酮发挥抗氧化炎症损伤作用的关键靶点。本研究拟采用硫代乙酰胺诱导小鼠急性肝损伤模型,以 Nrf2/HO-1 通路为核心,探究 α -香附酮改善氧化应激与炎症相关肝损伤的作用机制,论证 α -香附酮为香附醋制增效关键物质基础之一的科学性,以期对香附醋制增效的炮制机理研究提供一定的实验依据。

1 材料

1.1 动物

本研究选用 SPF 级 6~8 周雄性 C57BL/6 小鼠,24 只,体质量 18~22 g,由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供,许可证号 SCXK(鲁)2023-0002。动物在湿度(17.6 $\pm$ 5.0)%、温度(28.8 $\pm$ 3.0) $^{\circ}$ C 条件下饲养。本研究动物实验获得齐鲁医药学院实验动物福利伦理委员会批准(YXLL2025D002)。

1.2 药品与试剂

α -香附酮(质量分数 $\geq$ 98%,批号 YRX051-231001)购自成都仪睿生物科技有限公司;色谱甲

醇(批号 2025030701)购自成都市科隆化学品有限公司;硫代乙酰胺(批号 H37020766)购自北京索宝莱科技有限公司;天门冬氨酸氨基转移酶(AST,批号 20250314)、丙氨酸氨基转移酶(ALT,批号 20250228)生化试剂盒购自深圳雷杜生命科学股份有限公司;白细胞介素-1 β (IL-1 β ,批号 436711-001)生化试剂盒购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;总超氧化物歧化酶(SOD,批号 20240708)、丙二醛(MDA,批号 20240529)试剂盒购自南京建成科技有限公司;Nrf2 抗体(批号 GB113808)、HO-1 抗体(批号 GB11549)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶抗体(GAPDH,批号 GB15004)购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.3 仪器

SHINVA 独立通风笼具系统[辉瑞(山东)环境科技有限公司]、JY92-11N 型超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物)、D3024R 型台式高速冷冻离心机[大龙兴创实验仪器(北京)股份公司]、G6100 型免疫组化笔(武汉赛维尔生物科技有限公司)、PANNORA MICDESK/250 全景切片扫描仪(3DHISTECH)、Chemray 800 型全自动生化分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司)、Epoch 型酶标检测仪(美国博腾仪器有限公司)、Nikon Eclipse E100 型正置光学显微镜(日本尼康株式会社)。

2 方法

2.1 动物分组及给药

采用简单随机化法将雄性 C57BL/6 小鼠分为对照组、模型组、 α -香附酮组,每组 8 只。 α -香附酮组参照文献报道方法并基于前期预实验结果 ig α -香附酮(85 mg/kg,溶解于 0.1%二甲基亚砜)^[16],对照组和模型组每日给予等体积生理盐水,1 次/d,连续 4 d。第 4 天给药 1 h 后,除对照组,余各组小鼠 ip 硫代乙酰胺(100 mg/kg)建立肝损伤模型^[17]。

2.2 组织采集及处理

模型建立成功各组小鼠禁食不禁水 12 h 后,异氟烷麻醉并分别摘眼球取血,室温静置 0.5 h,于 4 $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 10 min,取上清,分装于 -80 $^{\circ}$ C 保存备用。剖取完整肝脏组织,一部分置于

4%多聚甲醛固定，剩余部分置于 -80°C 保存备用。

2.3 血清肝功指标的测定

取小鼠血清，按照试剂盒说明书要求采用全自动生化分析仪测定 AST 和 ALT 水平。

2.4 肝脏氧化炎症因子指标的测定

取肝脏组织，加入预冷生理盐水匀浆，取上清。按照试剂盒说明书要求检测 SOD 和 MDA 含量，ELISA 法检测肝脏组织中 IL-1 β 和 IL-6 的含量。

2.5 肝脏组织 HE 染色

取固定好的肝脏组织，将切片修整后，采用脱水、包埋、切片、染色等处理方法。最后采用显微镜镜检，并对图像采集分析。

2.6 免疫荧光法检测 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达

将肝脏组织的石蜡切片脱蜡水化，抗原修复后磷酸盐缓冲液洗涤；3% H_2O_2 封闭内源酶，血清阻断 30 min；一抗 4°C 过夜，HRP 二抗室温 50 min，DAPI 染核；淬灭自发荧光后封片，于荧光显微镜下观察，并用 Aipathwell 软件分析图像。

2.7 Western blotting 检测 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达

取冻存肝组织，提取总蛋白，采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转至 PVDF 膜、封闭、 4°C 孵育一抗过夜，二抗室温孵育 1 h。采用 ECL 化学发光成像系统采集图像，凝胶成像仪自带软件分析灰度值。

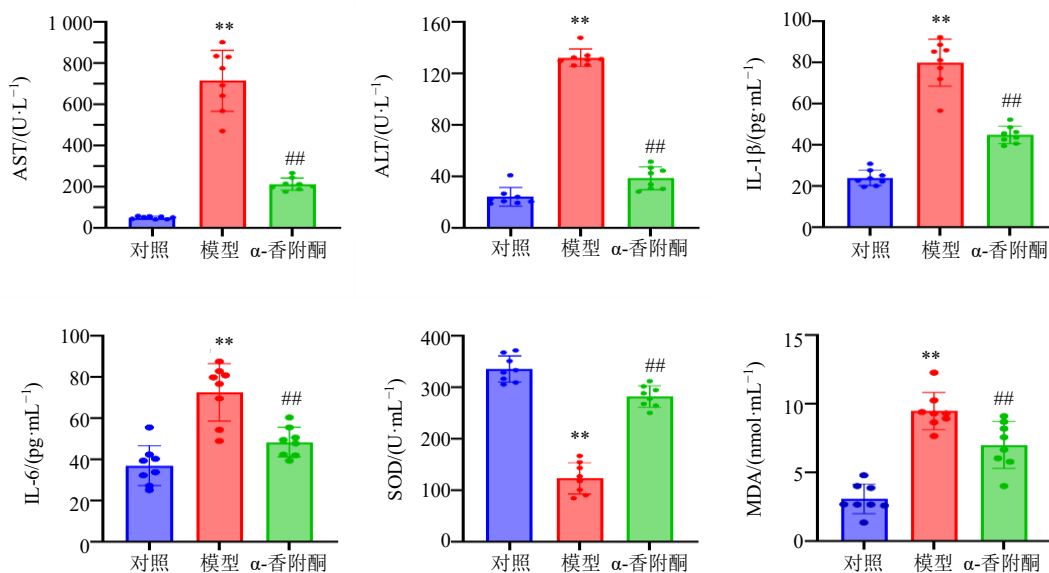
2.8 统计学分析

使用 GraphPad Prism 9.0 和 SPSS 29.0 软件进行数据统计分析。多组比较行单因素方差分析，两两比较行 LSD- t 检验，数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 α -香附酮对小鼠血清肝功能指标及肝内抗氧化炎症指标的影响

与模型组比较， α -香附酮组小鼠血清中 AST、ALT 水平，肝脏中 IL-1 β 、IL-6、MDA 含量显著降低，SOD 活性显著升高 ($P < 0.01$)，见图 1。这表明 α -香附酮可通过缓解氧化应激，降低改善硫代乙酰胺诱导的肝损伤炎症情况。



与对照组比较：** $P < 0.01$ ；与模型组比较：## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group.

图 1 各组小鼠肝功能及生化指标的含量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 1 Comparison of liver function and biochemical indicators contents among different groups of mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.2 肝组织 HE 染色结果

与对照组比较，模型组小鼠肝小叶结构受损明显，肝细胞和肝血窦不规则排列，细胞质中呈现部分不规则的空洞，肝板缝隙增大，肝细胞胞质疏松，且胞质嗜酸性增强。与模型组比较， α -香附酮组小鼠肝脏上述病理形态有较明显改善，肝小叶结构较

为清晰完整，胞质间不规则空洞减少，少见明显炎症细胞浸润，见图 2。 α -香附酮可发挥肝保护作用，缓解硫代乙酰胺诱导的小鼠肝损伤病理变化。

3.3 免疫荧光法及 Western blotting 法检测肝组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达情况

与模型组比较， α -香附酮组中的 Nrf2 和 HO-1

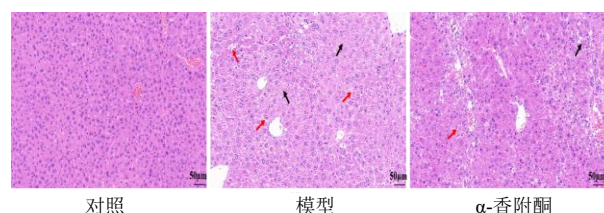


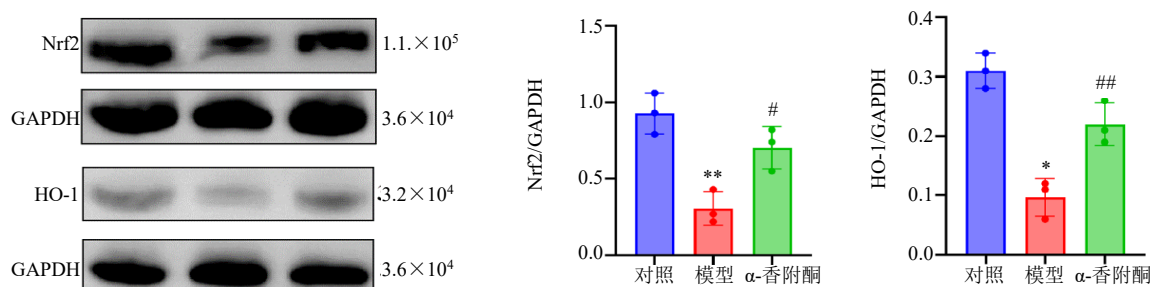
图 2 小鼠肝组织 HE 染色病理切片图 (×200)

Fig. 2 Histological section of mouse liver tissue stained with HE (×200)

蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$, 0.01), 见图 3、4。这表明硫代乙酰胺诱导的氧化应激肝损伤抑制了 Nrf2/HO-1 信号通路的激活, 而 α -香附酮能够激活 Nrf2/HO-1 信号通路, 对硫代乙酰胺诱导的肝损伤发挥抗氧化应激损伤的保护作用。

4 讨论

α -香附酮是香附挥发油中占比最高的关键活性



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

图 4 Western blotting 检测检测 α -香附酮对 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 4 Western blotting was used to detect the effect of α -cardamonone on the protein expression of Nrf2 and HO-1 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

成分之一^[18]。本研究结果表明, α -香附酮可降低肝损伤小鼠血清及肝脏中 AST、ALT 水平及 IL-1 β 、IL-6、MDA 的含量, 升高 SOD 的含量, 通过缓解肝损伤的氧化应激过程, 发挥肝保护作用; 还能上调 Nrf2 和 HO-1 蛋白的表达, 激活 Nrf2/HO-1 信号通路, 改善硫代乙酰胺诱导的肝损伤氧化应激炎症情况。这表明 α -香附酮可能是香附醋制后疏肝理气、抗肝损伤作用增强的关键物质基础之一。

Nrf2/HO-1 信号通路作为细胞抗氧化应激的核心调控系统, 在肝损伤的发生与发展中扮演着关键角色^[19]。Nrf2 是细胞抗氧化防御系统的核心转录因子, 在静息状态下与胞质中的负调控蛋白 Keap1 结合, 经由 Cullin3 (Cul3) -E3 泛素连接酶复合物介导的泛素 - 蛋白酶体途径持续降解, 维持在较低水

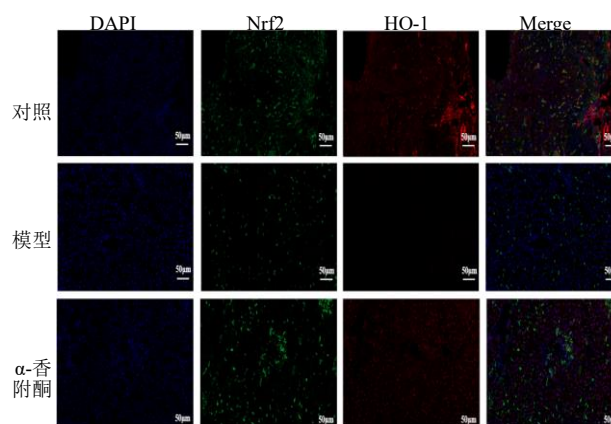


图 3 免疫荧光法检测 α -香附酮对 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响 (×200)

Fig. 3 Detection of the effect of α -cardamonone on the protein expression of Nrf2 and HO-1 by immunofluorescence (×200)

平^[20]。当细胞受到氧化应激或化学诱导剂刺激时, Keap1 分子中关键半胱氨酸残基被氧化修饰或与亲电体发生共价结合, 引起 Keap1 构象改变并使其丧失对 Nrf2 的锚定能力, 从而导致 Nrf2 与 Keap1 解离^[21]。稳定的 Nrf2 转位进入细胞核, 与小 Maf 蛋白形成异源二聚体, 识别并结合靶基因启动子区的抗氧化反应元件 (ARE), 启动 HO-1、SOD-1 等一系列抗氧化酶和Ⅱ相解毒酶的表达^[22]。本研究中, α -香附酮处理后 Nrf2 核内荧光强度显著增强, HO-1 蛋白及 SOD 活性水平同步上调, 提示 α -香附酮可有效诱导 Nrf2 与 Keap1 解离并促进其核转位。

从分子机制来看, 活性 Nrf2 通过转录调控 HO-1 等抗氧化酶清除胞内 ROS, 削弱 ROS 对 I κ B 激酶 (IKK) 的激活作用, 从而间接抑制 NF- κ B 信号

通路^[23]；反之，NF- κ B 的过度活化也可能抑制 Nrf2 的转录活性，二者存在相互拮抗关系；这可能是 α -香附酮兼具抗氧化与抗炎双重作用的重要分子基础。MAPK 信号通路不仅是炎症反应的驱动因素之一，还可通过磷酸化 Nrf2 蛋白上特定丝氨酸残基调节 Nrf2 与 Keap1 的结合能力及核转位效率^[20]。因此， α -香附酮调控肝损伤的作用可能涉及 Nrf2、NF- κ B、MAPK 3 条信号通路之间的网络化协同机制。近期 1 项针对硫代乙酰胺诱导急性肝损伤的研究同样表明，通过激活 Nrf2 并抑制 MAPK 和 NF- κ B 信号通路可显著减轻肝损伤^[24]，这与本研究结果相似，进一步支持了 α -香附酮可通过多通路交互调控改善硫代乙酰胺诱导急性肝损伤的作用模式。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 林丽婷, 王继森, 高天慧, 等. 蓬莪术醋制前后改善斑马鱼急性肝损伤的作用机制研究 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2611-2619.
- [2] 王子家, 左建娇. Nrf2/HO-1 信号通路对药物性肝损伤作用机制的研究进展 [J]. 临床误诊误治, 2025, 38(22): 133-140.
- [3] 罗美美, 朱星宇, 胡乐涛, 等. 基于 Nrf2/HO-1 信号通路的中药有效成分缓解肝损伤研究进展 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(7): 1638-1644.
- [4] Ezhilarasan D. Molecular mechanisms in thioacetamide-induced acute and chronic liver injury models [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2023, 99: 104093.
- [5] Kadir F A, Kassim N M, Abdulla M A, et al. Hepatoprotective role of ethanolic extract of vitex negundo in thioacetamide-induced liver fibrosis in male rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013: 739850.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 270.
- [7] 陈元惠, 罗霄, 廖婉, 等. 基于 CiteSpace 可视化图谱分析香附的研究动态及热点 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1717-1730.
- [8] 乔俊昊, 杨颜溶, 孙静洋, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别及多指标成分定量评价香附质量 [J]. 中草药, 2024, 55(17): 5999-6008.
- [9] 王跃华, 张欢, 陈展, 等. 不同炮制方法对香附中香附烯酮、 α -香附酮含量及抗炎活性的影响 [J]. 中医药信息, 2025, 42(3): 11-14.
- [10] Azimi A, Ghaffari S M, Riazi G H, et al. α -Cyperone of *Cyperus rotundus* is an effective candidate for reduction of inflammation by destabilization of microtubule fibers in brain [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 194: 219-227.
- [11] Zhang H W, Li S L, Lu J J, et al. α -Cyperone (CYP) down regulates NF- κ B and MAPKs signaling, attenuating inflammation and extracellular matrix degradation in chondrocytes, to ameliorate osteoarthritis in mice [J]. *Aging*, 2021, 13(13): 17690-17706.
- [12] Gao P, Ding N, Lv J X, et al. α -Cyperone inhibitory effects on tumor-derived DNA trigger microglia by STING pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 264: 113246.
- [13] Gao J H, L L T, Liu Y H, et al. Unlocking the hepatoprotective potential of *Cyperus rotundus* through edible vinegar processing: A study on functional ingredient enhancement [J]. *Food Sci Nutr*, 2026, 14(5): e71850.
- [14] Huang B X, Hu G Q, Zong X F, et al. α -Cyperone protects dopaminergic neurons and inhibits neuroinflammation in LPS-induced Parkinson's disease rat model via activating Nrf2/HO-1 and suppressing NF- κ B signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 115: 109698.
- [15] Huang B X, Liu J X, Fu S P, et al. α -Cyperone attenuates H₂O₂-induced oxidative stress and apoptosis in SH-SY5Y cells via activation of Nrf2 [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 281.
- [16] Xia B M, Tong Y, Xia C B, et al. α -Cyperone confers antidepressant-like effects in mice via neuroplasticity enhancement by SIRT3/ROS mediated NLRP3 inflammasome deactivation [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 577062.
- [17] 高天慧, 林丽婷, 陈元惠, 等. 川产道地药材蓬莪术醋制入肝调控“肠-肝轴”的增效机制研究 [J]. 中草药, 2025, 56(1): 133-144.
- [18] 王凤霞, 钱琪, 李葆林, 等. 香附化学成分和药理作用研究进展及质量标志物(Q-Marker)预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(16): 5225-5234.
- [19] 王子家, 左建娇. Nrf2/HO-1 信号通路对药物性肝损伤作用机制的研究进展 [J]. 临床误诊误治, 2025, 38(22): 133-140.
- [20] Li R, Jia Z Q, Zhu H. Regulation of Nrf2 signaling [J]. *React Oxyg Species*, 2019, 8(24): 312-322.
- [21] Giudice A, Arra C, Turco M C. Review of molecular mechanisms involved in the activation of the Nrf2-ARE signaling pathway by chemopreventive agents [J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 647: 37-74.
- [22] Ozleyen A, Kulabas S S, Novak M, et al. Interplay between NRF2 post-translational modifications and protein-protein interactions: Perspectives from emerging structural and functional evidence [J]. *Arch Biochem Biophysics*, 2026, 782: 110847.
- [23] Hassanein E H M, Althagafy H S, Baraka M A, et al. The promising antioxidant effects of lignans: Nrf2 activation comes into view [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2024, 397(9): 6439-6458.
- [24] Karthick M, Harini K S, Sanjay S, et al. Thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats: Hepatoprotective role of ethyl gallate in association with the regulation of Nrf2/MAPK/NF- κ B signaling pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2026, 512: 117837.

[责任编辑 高源]