

五味子醇甲通过调控肝细胞凋亡预防酒精性肝损伤的实验研究

陈睿林, 胥冰*, 史旭刚, 寇静, 史琳娜, 赵博

陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712000

摘要: 目的 探讨五味子醇甲通过调控 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2)/Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)/半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 信号通路预防酒精性肝损伤的作用机制。方法 将 55 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、水飞蓟宾组及五味子醇甲 10、30 mg/kg 组, 每组 11 只。各给药组于乙醇 ig 前给予相应药物进行预防性干预; 除对照组外, 其余各组均按 10 mL/kg ig 给予 50%乙醇, 每日 1 次, 连续 7 d, 建立急性酒精诱导性肝损伤模型。检测各组小鼠肝脏指数、血清天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 活性及炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 水平; 苏木精-伊红 (HE) 染色观察肝组织病理形态; dUTP 缺口末端标记法 (TUNEL) 检测肝细胞凋亡情况; 免疫组织化学及蛋白免疫印迹法检测肝组织中 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 蛋白表达。结果 五味子醇甲 10、30 mg/kg 组及水飞蓟宾组均能降低肝脏指数, 血清 AST、ALT 活性及 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 炎症因子水平 ($P < 0.05$), 减轻肝细胞肿胀、胞质疏松及空泡样改变等病理损伤, 减少 TUNEL 阳性凋亡细胞数量, 且五味子醇甲 30 mg/kg 组改善趋势更明显; 免疫组织化学及蛋白免疫印迹法结果显示, 五味子醇甲干预后 Bcl-2 蛋白表达升高, Bax、Caspase-3 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。结论 五味子醇甲预防性改善酒精性肝损伤的作用机制可能与调控 Bcl-2/Bax/Caspase-3 信号通路, 抑制肝细胞凋亡和减轻炎症反应有关。

关键词: 五味子醇甲; 酒精性肝损伤; 肝细胞凋亡; Bcl-2/Bax/Caspase-3; 炎症反应

中图分类号: R286.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2026)08-2188-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.08.002

Experimental study on preventive effect of schisandrol A against alcohol-induced liver injury by regulating hepatocyte apoptosis

CHEN Ruilin, XU Bing, SHI Xugang, KOU Jing, SHI Linna, ZHAO Bo

Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism by which schisandrol A prophylactically ameliorates alcoholic liver injury via the B-cell lymphoma-2 (Bcl-2)/Bcl-2-associated X protein (Bax)/cysteine protease-3 (Caspase-3) signaling pathway. **Methods** Fifty-five SPF-grade male C57BL/6J mice were randomly divided into control group, model group, silibinin group, schisandrol A 10, 30 mg/kg group, with 11 mice in each group. The administration groups received the corresponding drug for preventive intervention before ethanol gavage. Except for the control group, mice in the other groups were intragastrically administered 50% ethanol at a dose of 10 mL/kg once daily for 7 consecutive days to establish an acute ethanol-induced liver injury model. The liver index, serum activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), as well as the levels of inflammatory factors including tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 β (IL-1 β) were detected. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe the pathological morphology of liver tissues. Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) assay was used to detect hepatocyte apoptosis. Immunohistochemistry and Western blot were adopted to determine the protein expressions of Bcl-2, Bax and Caspase-3 in liver tissues. **Results** Compared with the model group, the silybin group and schisandrol A 10, 30 mg/kg groups significantly reduced the liver index, serum AST and ALT activities, and the levels of IL-1 β , TNF- α and IL-6 ($P < 0.05$), alleviated pathological injuries such as hepatocellular swelling, cytoplasmic rarefaction and vacuolar degeneration, and decreased the number of TUNEL-positive apoptotic cells, with more prominent ameliorative effects observed in the schisandrol A

收稿日期: 2026-06-08

基金项目: 陕西省自然科学基金资助项目 (2023-JC-YB-69B); 陕西省科技厅自然基础研究计划项目 (2025JC-YEMS-951); 秦创原中医药产业创新聚集区项目 (L2024-QCY-ZYYJJQ-X139, L2024-QCY-ZYYJJQ-X129); 博士科研启动金 (306/17102032233); 陕西中医药大学研究生教育教学改革创新项目 (JGCX202404); 自然科学基金基础研究计划一般项目面上项目 (2026JC-YBMS-0984)

作者简介: 陈睿林, 硕士研究生。E-mail: 1197791936@qq.com

*通信作者: 胥冰, 女, 教授, 硕士生导师。E-mail: xubing-95@163.com

30 mg/kg group. The results of immunohistochemistry and Western blot revealed that schisandrol A intervention up-regulated the protein expression of Bcl-2 and down-regulated the protein expressions of Bax and Caspase-3 ($P < 0.05$). **Conclusion** The preventive protective effect of schisandrol A against alcoholic liver injury may be associated with regulating the Bcl-2/Bax/Caspase-3 signaling pathway, inhibiting hepatocyte apoptosis and mitigating inflammatory response.

Key words: schisandrol A; alcoholic liver injury; hepatocyte apoptosis; Bcl-2/Bax/Caspase-3; inflammatory response

酒精性肝损伤是过量饮酒或短期大量饮酒导致的肝细胞损伤状态,可表现为肝细胞脂肪变性、炎症反应、氧化应激及肝功能异常等病理改变,严重时进一步进展为酒精性肝炎、肝纤维化甚至肝硬化^[1-2]。目前临床针对酒精相关肝损伤的干预仍以戒酒、营养支持及保肝降酶等综合措施为主,特异性药物选择有限。因此,寻找能够减轻酒精诱导肝细胞损伤并改善肝功能异常的有效活性成分,具有重要研究价值。肝细胞凋亡是酒精性肝损伤发生发展的重要环节之一,其主要特征为细胞体积缩小、染色质固缩及凋亡小体形成,并通常由半胱天蛋白酶(Caspase)级联反应主动执行^[3-5]。B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)/Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)/Caspase-3 通路是调控细胞凋亡的重要信号轴,其中 Bcl-2 具有抗凋亡作用,Bax 参与促凋亡信号启动,Caspase-3 则是凋亡执行阶段的重要蛋白^[5]。有研究提示,Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 等凋亡相关蛋白参与多种肝损伤病理过程,其表达失衡与肝组织损伤进展密切相关^[5-6]。

五味子富含木脂素类成分,具有抗氧化应激、抗炎及肝脏保护等药理活性^[7-8]。五味子醇甲作为五味子中的重要活性成分,研究显示其可减轻药物性肝损伤,并与炎症反应、细胞自噬及肝脏保护过程相关^[9-10]。酒精性肝损伤的发生与线粒体损伤、炎症因子释放及肝细胞异常凋亡密切相关,Bcl-2、Bax、Caspase-3 分别涉及抗凋亡调控、促凋亡信号启动及凋亡执行过程。因此,本研究选择 Bcl-2/Bax/Caspase-3 通路作为五味子醇甲预防酒精性肝损伤作用机制的重点验证方向。有研究提示,五味子木脂素类成分对酒精诱导性肝损伤有一定保护作用^[11],但五味子醇甲是否通过调控上述凋亡通路发挥作用仍需进一步阐明。基于此,本研究通过构建小鼠急性酒精性肝损伤模型,探讨五味子醇甲的预防保护作用及其与抑制肝细胞凋亡、调节 Bcl-2/Bax/Caspase-3 信号通路之间的关联性。

1 材料

1.1 实验动物

雄性 C57BL/6J 小鼠,体质量 20~25 g,购自

西安华仁生物科技有限公司,生产许可证号 SCXK(陕)2018-0001。饲养于温度 24 ℃、相对湿度 60% 的环境中。期间所有小鼠自由饮水和采食,进行 1 周适应性饲养。实验流程及操作经陕西省实验动物研究中心动物伦理委员会批准(批号 20220328001)。

1.2 实验仪器

Pannoramic MIDI 扫描仪(匈牙利 3DHISTECH 公司);CR22G II 型高速冷冻离心机(日本日立公司);SpectraMax 5 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);Mini-PROTEAN® Tetra 小型垂直电泳槽、Trans-Blot 转膜系统(美国 Bio-Rad 公司);ND-2000C 型微量紫外可见分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Tanon 5200 化学发光成像系统(上海天能科技有限公司)。

1.3 实验试剂

五味子醇甲(质量分数 99%,批号 S920101146)购自上海士峰生物科技有限公司;水飞蓟宾胶囊(规格 140 mg/粒,批号 8220302)购自德国马道斯有限公司;羧甲基纤维素钠(批号 20240107)购自国药集团化学试剂有限公司;丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒(批号 ml095162)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒(批号 ml095194)均购自海联生物科技有限公司;肿瘤坏死因子- α (TNF- α)检测试剂盒(批号 GEM0004-48T)、白细胞介素-6(IL-6)检测试剂盒(批号 GEM0001-96T)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)检测试剂盒(批号 GEM0002-48T)、抗荧光淬灭封片剂(批号 G1401)、4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染液(批号 G1012)、dUTP 缺口末端标记法(TUNEL)试剂盒(批号 G1504)、磷酸盐缓冲液(PBS)(批号 G0002)、Bax 一抗(批号 GB154122-100)、Bcl-2 一抗(批号 GB154380-100)、Caspase-3 一抗(批号 GB155600-100)、相应二抗(批号 G1267-200T)、放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液(批号 G2002)、蛋白酶抑制剂(批号 G2006)、二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒(批号 G2026)、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶配制试剂(货号 G2037-50T)、聚偏二氟乙烯(PVDF)

膜(货号 G6044-0.45)、脱脂奶粉(货号 GC310001)、Tris 缓冲盐聚山梨酯 20 溶液(TBST)(货号 G0004)和增强化学发光(ECL)液(货号 G2014)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

2 实验方法

2.1 酒精性肝损伤小鼠模型的建立与给药

55 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠适应性饲养 7 d 后,随机分为对照组、模型组、水飞蓟宾组及五味子醇甲 10、30 mg/kg 组,每组 11 只。参考五味子醇甲小鼠体内给药剂量相关文献报道^[12],设置 10、30 mg/kg 给药量,并结合五味子醇甲肝保护作用相关研究^[9-10]。将五味子醇甲分散于 0.5%羧甲基纤维素钠溶液中,制备成相应浓度的给药混悬液。水飞蓟宾胶囊内容物取出后研细,同样以 0.5%羧甲基纤维素钠溶液配制相应浓度的给药混悬液。各药物混悬液 ig 前充分混匀。五味子醇甲 10、30 mg/kg 组分别按 10、30 mg/kg ig 给药,水飞蓟宾组按 40.95 mg/kg ig 给药,作为阳性药对照;对照组和模型组给予等体积 0.5%羧甲基纤维素钠溶液。自第 8 天起,各组先给予相应药物或溶媒,1.5 h 后,除对照组外,其余各组均按 10 mL/kg ig 给予 50%乙醇,以建立急性酒精诱导性肝损伤模型;对照组在造模环节给予等体积蒸馏水。上述处理每日 1 次,连续 7 d^[13-14]。末次 ig 后禁食 12 h,称体质量后采用腹主动脉采血法取血,分离血清备用。随后取出肝脏并称重,部分肝叶组织置于多聚甲醛固定,剩余肝组织置于-80 °C 超低温冰箱保存,用于后续检测。

2.2 肝脏指数检测

称取小鼠肝脏组织质量并计算其肝脏指数。

肝脏指数=肝质量(g)/体质量(g)

2.3 肝组织病理切片分析

采用多聚甲醛对小鼠肝脏进行固定,随后进行乙醇脱水,石蜡包埋,制备切片,苏木精-伊红(HE)染色后中性树胶封片,观察肝组织变化。

2.4 血清生化指标

取分离血清样本,按照 ALT 和 AST 检测试剂盒说明书进行操作,采用酶标仪检测吸光度值,并计算血清 ALT、AST 活性,以评价小鼠肝功能损伤程度。

2.5 酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定血清炎症指标

取分离后的血清样本,按照 ELISA 试剂盒说明书检测 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平。采用酶标仪测定

吸光度值,并根据标准曲线计算各炎症因子浓度。

2.6 TUNEL 检测细胞凋亡

使用肝组织切片进行脱蜡水化,滴加末端脱氧核苷酸转移酶介导的 TUNEL 试剂液,37 °C 避光孵育 60 min,再进行 DAPI 复染后封片,观察并采集图像。蓝色荧光为 DAPI 染色的细胞核,绿色荧光为 TUNEL 阳性凋亡细胞。每组随机选取 3 只小鼠肝组织切片,每张切片随机选取 3 个非重叠视野,采用 Image J 软件统计 TUNEL 阳性细胞数和总细胞数,并计算 TUNEL 阳性率。

TUNEL 阳性率=TUNEL 阳性细胞数/总细胞数

2.7 免疫组织化学法检测小鼠肝组织蛋白表达

采用免疫组织化学法检测小鼠肝组织 Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白表达。使用 4%多聚甲醛固定小鼠肝组织 24 h,流水冲洗 6 h。制备切片,依次进行脱蜡、水化、抗原修复,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗后,使用山羊血清进行封闭处理,滴加 Bcl-2、Bax、Caspase-3 一抗孵育。PBS 清洗后加入相应二抗孵育,依次进行显色、苏木精复染和封片。采用 Panoramic MIDI 扫描仪采集图像并观察。每组随机选取 3 只小鼠肝组织切片,每张切片随机选取 3 个非重叠视野,采用 Image J 软件测定图像平均光密度值,以此反映蛋白阳性表达水平。

2.8 蛋白免疫印迹法检测小鼠肝组织凋亡相关蛋白表达

每组随机选取 3 只小鼠肝组织样本,加入 RIPA 裂解液及蛋白酶抑制剂充分裂解,冰上静置后离心取上清。采用 BCA 法测定蛋白浓度,取等量蛋白经 SDS-PAGE 分离后转移至 PVDF 膜。PVDF 膜经 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h 后,分别加入 Bcl-2、Bax、Caspase-3 及 β -actin 一抗,按说明书推荐比例稀释后 4 °C 孵育过夜。次日以 TBST 洗膜后加入相应二抗,室温孵育 1 h,经 ECL 显色并采集图像。采用 Image J 软件对条带灰度值进行辅助分析,以 β -actin 作为内参,用于评价目的蛋白表达变化。

2.9 数据分析

采用 GraphPad Prism 10.4.2 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析;符合方差齐性时采用 Tukey 法进行组间两两比较,不符合方差齐性时采用 Welch 校正及 Dunnett T3 检验。统计学比较按“模型组与对照组比较,给药组与模型组比较”的原则进行标注,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠肝脏指数比较

与对照组比较，模型组小鼠肝脏指数显著升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，水飞蓟宾组和五味子醇甲 10、30 mg/kg 组小鼠肝脏指数明显降低 ($P<0.05$)，五味子醇甲 30 mg/kg 组改善趋势较为明显。见表 1。

3.2 各组小鼠肝脏 HE 染色

与对照组相比，模型组小鼠肝细胞肿胀，胞质疏松，局部可见空泡样改变；五味子醇甲 10、30 mg/kg 组干预后上述病理改变有所改善，其中五味子醇甲 30 mg/kg 组改善趋势较为明显。见图 1。

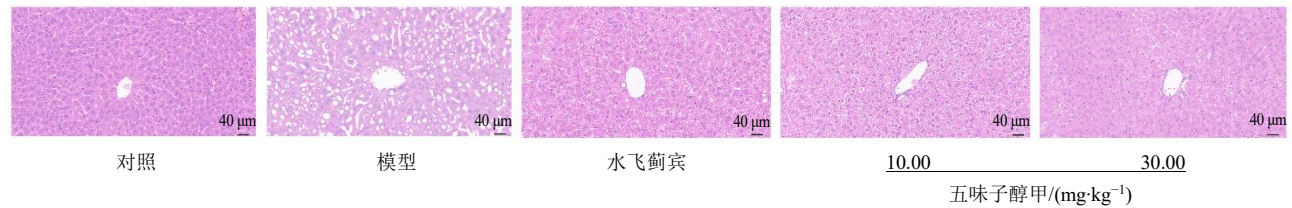


图 1 各组小鼠肝脏 HE 染色情况 (×200)

Fig. 1 HE staining of liver tissues in mice among groups (×200)

3.3 各组小鼠血清 ALT 和 AST 水平比较

与对照组比较，模型组 ALT、AST 活性均升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，水飞蓟宾组、五味子醇甲 10、30 mg/kg 组均可不同程度降低血清 ALT 和 AST 活性 ($P<0.05$)，其中五味子醇甲 30 mg/kg 组改善趋势更为明显。见表 2。

3.4 各组小鼠血清炎症因子水平比较

与对照组相比，模型组炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平明显升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，水飞蓟宾组和五味子醇甲 10、30 mg/kg 组均可不同程度降低血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平 ($P<0.05$)，其中五味子醇甲 30 mg/kg 组下降趋势较为明显。见

表 1 各组小鼠肝脏指数比较 ($\bar{x} \pm s, n = 11$)
Table 1 Comparison on liver index in mice among groups ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肝脏指数/%
对照	—	4.54±0.49
模型	—	5.37±0.21*
水飞蓟宾	40.95	4.60±0.24 [#]
五味子醇甲	10.00	4.94±0.18 [#]
	30.00	4.66±0.26 [#]

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

表 3。

表 2 各组小鼠血清 ALT 和 AST 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 11$)
Table 2 Comparison on serum ALT and AST levels in mice among groups ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
对照	—	19.40±3.50	31.70±4.20
模型	—	42.61±0.53*	70.40±8.31*
水飞蓟宾	40.95	24.55±1.26 [#]	34.30±7.57 [#]
五味子醇甲	10.00	32.45±1.28 [#]	49.80±6.24 [#]
	30.00	23.37±1.68 [#]	37.50±5.13 [#]

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

表 3 各组小鼠血清 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

Table 3 Comparison on serum TNF- α , IL-6 and IL-1 β levels in mice among groups ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)
对照	—	4.20±1.15	18.30±3.70	1.39±0.23
模型	—	22.70±3.58*	78.60±6.28*	5.64±1.24*
水飞蓟宾	40.95	7.30±2.83 [#]	29.40±7.83 [#]	2.32±1.13 [#]
五味子醇甲	10.00	11.80±2.10 [#]	41.20±6.56 [#]	3.13±2.26 [#]
	30.00	5.70±1.41 [#]	23.50±4.31 [#]	2.12±0.11 [#]

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

3.5 各组小鼠肝细胞凋亡情况

与对照组相比, 模型组 TUNEL 阳性细胞明显增多; 与模型组比较, 水飞蓟宾组和五味子醇甲 10、

30 mg/kg 组小鼠 TUNEL 阳性细胞减少, 其中五味子醇甲 30 mg/kg 组的减少趋势更为明显。见图 2 和表 4。

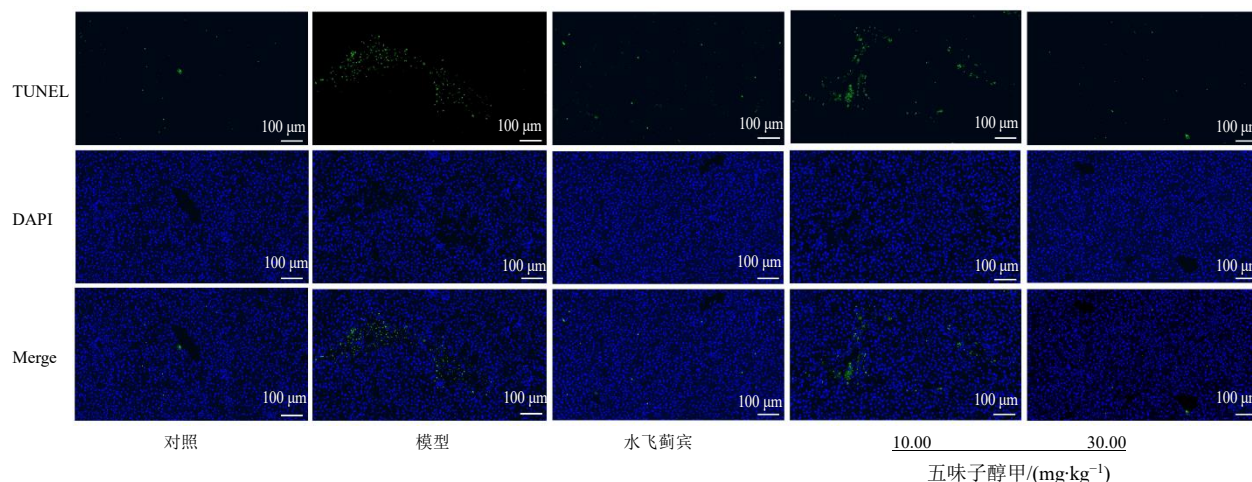


图 2 各组小鼠肝细胞凋亡代表性图像 (×100)

Fig. 2 Representative images of hepatocyte apoptosis in mice among groups (×100)

表 4 各组小鼠 TUNEL 阳性率比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 4 Comparison of TUNEL-positive rate in mice among groups ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TUNEL 阳性率/%
对照	—	4.47 ± 1.21
模型	—	34.02 ± 5.32*
水飞蓟宾	40.95	12.72 ± 3.03 [#]
五味子醇甲	10.00	21.06 ± 2.62 [#]
	30.00	11.91 ± 1.82 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group.

3.6 各组小鼠肝组织中 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 蛋白阳性表达

与对照组比较, 模型组肝组织中 Bax、Caspase-3 蛋白阳性表达增强, Bcl-2 蛋白阳性表达减弱; 经预防性干预后, 水飞蓟宾组和五味子醇甲 10、30 mg/kg 组肝组织中 Bax、Caspase-3 蛋白阳性表达减弱, Bcl-2 蛋白阳性表达增强, 其中五味子醇甲 30 mg/kg 组改善趋势较为明显。见图 3 和表 5。

3.7 蛋白免疫印迹法检测各组小鼠肝组织凋亡相关蛋白表达

与对照组比较, 模型组小鼠肝组织中 Bcl-2 蛋

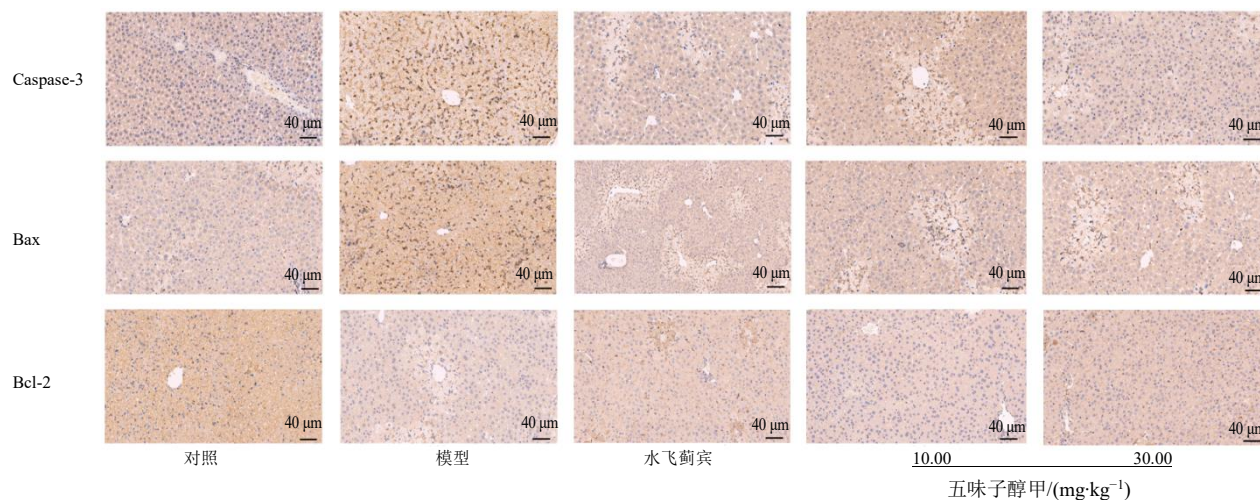


图 3 各组小鼠肝组织中 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 蛋白表达情况 (×200)

Fig. 3 Expression of Bcl-2, Bax and Caspase-3 proteins in liver tissues of mice in each group (×200)

表 5 各组小鼠肝组织凋亡相关蛋白的平均光密度值比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Comparison on average optical density of apoptosis-related proteins in liver tissues in mice among groups ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Bcl-2 的平均光密度值	Bax 的平均光密度值	Caspase-3 的平均光密度值
对照	—	0.142±0.018	0.056±0.010	0.049±0.010
模型	—	0.071±0.012*	0.184±0.024*	0.192±0.027*
水飞蓟宾	40.95	0.119±0.018 [#]	0.104±0.017 [#]	0.105±0.018 [#]
五味子醇甲	10.00	0.092±0.014	0.128±0.020 [#]	0.138±0.022 [#]
	30.00	0.127±0.017 [#]	0.093±0.016 [#]	0.094±0.017 [#]

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

白相对表达量降低, Bax 和 Caspase-3 蛋白相对表达量升高 (*P*<0.05); 与模型组比较, 水飞蓟宾组、五味子醇甲 10、30 mg/kg 组 Bcl-2 蛋白相对表达量升高, Bax 和 Caspase-3 蛋白相对表达量降低 (*P*<0.05), 其中五味子醇甲 30 mg/kg 组改善趋势更为明显。见图 4 和表 6。

4 讨论

酒精性肝损伤是酒精诱导的肝细胞损伤性疾病, 其病理过程常伴随肝细胞变性、坏死、炎症浸润及凋亡增加。过量乙醇及其代谢产物可破坏肝细胞稳态, 诱导氧化应激、线粒体损伤和炎症因子释放, 进而加重肝组织损害^[15-16]。其中, 肝细胞过度

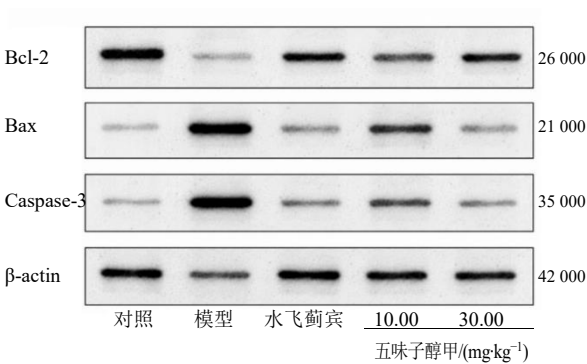


图 4 各组小鼠肝组织中 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 蛋白表达
Fig. 4 Protein expression levels of Bcl-2, Bax and Caspase-3 in liver tissues of mice among groups

表 6 各组小鼠肝组织凋亡相关蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 6 Comparison of relative expression levels of apoptosis-related proteins in liver tissues among groups ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Bcl-2 蛋白相对表达量	Bax 蛋白相对表达量	Caspase-3 蛋白相对表达量
对照		1.19±0.08	1.01±0.19	1.06±0.07
模型		0.43±0.05*	2.74±0.22*	2.94±0.24*
水飞蓟宾	40.95	0.83±0.07 [#]	1.36±0.12 [#]	1.44±0.14 [#]
五味子醇甲	10.00	0.64±0.06 [#]	1.88±0.17 [#]	2.02±0.18 [#]
	30.00	0.88±0.06 [#]	1.30±0.12 [#]	1.38±0.13 [#]

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

凋亡是酒精性肝损伤进展中的重要环节, Bcl-2/Bax/Caspase-3 轴在酒精性肝损伤及多种实验性肝损伤模型中的凋亡调控作用已有报道^[17-18]。因此, 抑制肝细胞过度凋亡、减轻炎症反应是预防和改善酒精性肝损伤的重要方向。

酒精性肝损伤属中医学“酒伤”“胁痛”等范畴, 其病位初在脾胃, 渐累及肝胆、肾^[19]。酒毒内蕴为核心诱因, 纵酒损脾碍胃, 酿生湿热毒邪, 阻滞气机, 日久可致气滞血瘀, 终致肝脾肾同病^[20]。五味子为临床常用中药, 具有敛肺滋肾、益气生津

等传统功用。现代研究表明, 五味子富含木脂素类等活性成分, 具有抗炎、抗氧化应激和肝保护等药理作用^[21-23]。五味子醇甲作为五味子中的重要活性成分之一, 已被报道与抗炎、肝保护及细胞损伤调控相关^[7-10], 与酒精性肝损伤的关键病理环节具有一定契合度。

本研究以五味子活性成分五味子醇甲为研究对象, 通过构建小鼠急性酒精性肝损伤模型, 探讨其预防性保护作用及可能机制。结果显示, 五味子醇甲可降低急性酒精性肝损伤小鼠肝指数及血清 ALT、

AST 活性,减轻肝组织病理损伤,并下调 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平,提示其具有保肝降酶和抗炎作用。进一步结合 TUNEL、免疫组织化学及蛋白免疫印迹法结果可见,五味子醇甲可减少肝细胞凋亡,上调 Bcl-2 表达并下调 Bax、Caspase-3 表达。上述结果提示,五味子醇甲对酒精性肝损伤的预防性改善作用可能与减轻炎症反应、调节 Bcl-2/Bax/Caspase-3 相关凋亡通路有关。

综上所述,五味子醇甲可减轻急性酒精诱导性肝损伤小鼠的肝功能异常、炎症反应及肝细胞凋亡。免疫组织化学及蛋白免疫印迹法结果进一步表明,其作用机制可能与调节 Bcl-2/Bax/Caspase-3 相关凋亡通路有关。该发现为基于传统中药活性成分的酒精性肝损伤预防性干预提供了一定实验依据。本研究仍存在一定局限性,尚未进一步验证五味子醇甲对上游调控信号的影响及其与相关靶点之间的直接关系;其最佳给药剂量、疗程及安全性仍需进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Seitz H K, Bataller R, Cortez-Pinto H, *et al.* Alcoholic liver disease [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 16.
- [2] Hong X, Huang S, Jiang H, *et al.* Alcohol-related liver disease (ALD): Current perspectives on pathogenesis, therapeutic strategies, and animal models [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1432480.
- [3] Hussar P. Apoptosis regulators Bcl-2 and Caspase-3 [J]. *Encyclopedia*, 2022, 2(4): 1624-1636.
- [4] Li S J, Hu K, Li L J, *et al.* Stattic alleviates acute hepatic damage induced by LPS/D-galactosamine in mice [J]. *Innate Immun*, 2021, 27(2): 201-209.
- [5] 金少举, 郭昆鹏, 黄亚男, 等. 鸟苷酸二钠通过抑制 Caspase 3/Bax/Bcl-2 凋亡通路保护 LPS/D-GalN 致小鼠急性肝损伤 [J]. *现代预防医学*, 2021, 48(23): 4365-4369.
- [6] Pang H, Wang C Z, Ye J, *et al.* Diallyl trisulfide plays an antifibrotic role by inhibiting the expression of Bcl-2 in hepatic stellate cells [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2022, 36(8): e23097.
- [7] Wang X H, Wang X W, Yao H, *et al.* A comprehensive review on Schisandrin and its pharmacological features [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2024, 397(2): 783-794.
- [8] Yang K, Qiu J, Huang Z C, *et al.* A comprehensive review of ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, and pharmacokinetics of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. and *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 284: 114759.
- [9] Li X K, Gong S H, Chen W S, *et al.* Schisandrol A, a bioactive constituent from *Schisandrae Chinensis Fructus*, alleviates drug-induced liver injury by autophagy activation via exosomes [J]. *Bioorg Chem*, 2023, 139: 106751.
- [10] Li X K, Ge J M, Li M Y, *et al.* Network pharmacology, molecular docking technology integrated with pharmacodynamic study to reveal the potential targets of Schisandrol A in drug-induced liver injury by acetaminophen [J]. *Bioorg Chem*, 2022, 118: 105476.
- [11] Wang O, Cheng Q, Liu J, *et al.* Hepatoprotective effect of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. lignans and its formula with *Rubus idaeus* on chronic alcohol-induced liver injury in mice [J]. *Food Funct*, 2014, 5(11): 3018-3025.
- [12] 张忠强, 刘嘉璐, 王堰, 等. 五味子醇甲改善睡眠剥夺小鼠抑郁样行为的机制研究 [J]. *山西医科大学学报*, 2025, 56(9): 1031-1041.
- [13] 骆利飞, 梁利鹏, 杜习勤, 等. 石斛葛根饮对酒精性肝损伤小鼠的护肝作用 [J]. *食品研究与开发*, 2025, 46(20): 68-76.
- [14] 刘娟芳, 张玲. 酒精性肝病动物模型构建方法及研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2025, 33(11): 1701-1708.
- [15] Wu X Q, Fan X D, Miyata T, *et al.* Recent advances in understanding of pathogenesis of alcohol-associated liver disease [J]. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, 2023, 18: 411-438.
- [16] Mackowiak B, Fu Y J, Maccioni L, *et al.* Alcohol-associated liver disease [J]. *J Clin Invest*, 2024, 134(3): e176345.
- [17] 毕业东, 苏金玲, 安先凤, 等. Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 在酒精性肝病大鼠肝组织中的表达和五田保肝液的干预作用 [J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(10): 封 3-封 4.
- [18] 王凤林, 戴敏, 李永伟, 等. 清下方对内毒素性肝损伤大鼠肝细胞凋亡因子 Caspase-3、Bcl-2、Bax mRNA 的影响 [J]. *中医临床研究*, 2022, 14(21): 1-4.
- [19] 杨柳, 薄颖异, 于冰莉, 等. 中医药防治酒精性肝病概况及相关机制研究进展 [J]. *中成药*, 2020, 42(3): 719-726.
- [20] 潘家姝, 喻晓, 邢练军. 中医药治疗酒精性肝病的相关研究进展 [J]. *中西医结合肝病杂志*, 2022, 32(10): 957-960.
- [21] 邢楠楠, 屈怀东, 任伟超, 等. 五味子主要化学成分及现代药理作用研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(15): 210-218.
- [22] 都梦帆, 向汝, 胥冰, 等. 五味子及其活性成分治疗酒精性肝损伤研究进展 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2022, 31(3): 429-433.
- [23] Zhang F, Zhai J X, Weng N, *et al.* A comprehensive review of the main lignan components of *Schisandra chinensis* (north wu Wei Zi) and *Schisandra sphenanthera* (south wu Wei Zi) and the lignan-induced drug-drug interactions based on the inhibition of cytochrome P450 and P-glycoprotein activities [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 816036.

【责任编辑 金玉洁】