玉竹多糖抑制铁死亡预防对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤

覃黄辉[1]，黄钇涛[2]，陈润晓[1]，蔡　亮[1]，刘　航[1*]，李兰玉[1*]
1. 桂林医科大学 广西糖尿病系统医学重点实验室，广西 桂林　541001
2. 厦门金达威维生素有限公司，福建 厦门　361028

摘　要：目的　探讨玉竹多糖对对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤的预防作用，以及其是否通过调节核因子 E2 相关因子 2（Nrf2）通路抑制铁死亡和炎症反应。**方法**　采用 C57BL/6 小鼠 ip 对乙酰氨基酚建立急性肝损伤模型，玉竹多糖（0.2、0.4、0.8 g/kg）组提前 ig 3 d。检测血清丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸转氨酶（AST）、乳酸脱氢酶（LDH）水平；肝组织苏木素－伊红（HE）染色观察病理改变；测定肝组织亚铁离子含量、氧化应激指标[谷胱甘肽（GSH）、丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）]及炎症因子[白细胞介素（IL）-1β、IL-6、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）]水平；Western blotting 检测 Nrf2、Kelch 样 ECH 相关蛋白 1（Keap1）、谷胱甘肽过氧化物酶 4（GPX4）、铁死亡抑制蛋白 1（FSP1）蛋白表达。**结果**　与模型组比较，玉竹多糖各剂量组 AST、ALT、LDH 水平均显著降低（P＜0.05、0.01、0.001），肝坏死和炎症细胞浸润显著减轻。与模型组比较，玉竹多糖 0.2、0.4 g/kg 组 Suzuki 评分均显著降低（P＜0.01、0.001）。与模型组比较，玉竹多糖（0.2 、0.4 g/kg）组的 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平均显著下降（P＜0.05、0.01、0.001）。与模型组相比，玉竹多糖（0.2 、0.4 g/kg）组 GSH、SOD 水平显著上升，Fe^{2+}水平显著降低（P＜0.05、0.01、0.001）；玉竹多糖 0.2 g/kg 组 MDA 显著降低（P＜0.05）。与模型组相比，玉竹多糖（0.2、0.4 g/kg）组的 Nrf2 蛋白表达量显著升高（P＜0.05、0.01）；玉竹多糖 0.4 g/kg 组 Keap1、GPX4 蛋白表达量显著上调（P＜0.05），玉竹多糖 0.2 g/kg 组对 FSP1 蛋白表达量显著升高（P＜0.01）。**结论**　玉竹多糖通过调节 Nrf2 通路抑制肝脏铁死亡和炎症反应，从而预防对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤。

关键词：玉竹多糖；急性肝损伤；铁死亡；炎症；核因子 E2 相关因子 2；Kelch 样 ECH 相关蛋白 1；谷胱甘肽过氧化物酶 4；铁死亡抑制蛋白 1
中图分类号：R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674 - 5515(2026)10 - 2761 - 08
DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.10.002

Polygonatum odoratum polysaccharides prevent acetaminophen-induced acute liver injury by inhibiting ferroptosis

QIN Huanghui[1], HUANG Yitao[2], CHEN Runxiao[1], CAI Liang[1], LIU Hang[1], LI Lanyu[1]
1. Guangxi Key Laboratory of Diabetes System Medicine, Guilin Medical University, Guilin 541001, China
2. Xiamen Jindawell Vitamin Co., Ltd., Xiamen 361028, China

Abstract: Objective　To investigate the preventive effect of *Polygonatum odoratum* polysaccharides on acetaminophen-induced acute liver injury, and to determine whether this effect is mediated by the regulation of the Nrf2 pathway to inhibit hepatic ferroptosis and inflammatory responses. **Methods**　An acute liver injury model was established in C57BL/6 mice by intraperitoneal injection of acetaminophen, *Polygonatum odoratum* polysaccharides (0.2, 0.4, 0.8 g/kg) groups were administered via oral gavage 3 days in advance. Serum ALT, AST, and LDH levels were measured, pathological changes were observed via HE staining of liver tissue, measured hepatic ferrous iron content, oxidative stress markers (GSH, SOD, MDA), and inflammatory cytokine levels (IL-1β, IL-6, TNF-α), and analyzed protein expression of Nrf2, Keap1, GPX4, and FSP1 via Western blotting. **Results**　Compared with model group, the levels of AST, ALT and LDH in each dose group of *Polygonatum odoratum* polysaccharides were significantly decreased (P < 0.05, 0.01, 0.001), and the liver necrosis and inflammatory cell infiltration were significantly alleviated. Compared with model group, the Suzuki scores in the *Polygonatum odoratum* polysaccharides 0.2 and 0.4 g/kg groups were significantly decreased (P < 0.01,

收稿日期：2026-07-11
基金项目：广西自然科学基金联合专项（2024JJH130036）
作者简介：覃黄辉，男，本科，研究方向为肝脏疾病及相关药物。E-mail: huanghuiqinnn@163.com
*通信作者：刘　航，男，博士研究生，研究方向为动脉粥样硬化。E-mail: hangliu01@126.com
李兰玉，女，讲师，硕士研究生导师，研究方向为多囊卵巢综合症、代谢性肝病。E-mail: lanyuli@glmc.edu.cn

0.001). Compared with model group, the levels of IL-1β, IL-6 and TNF-α in the *Polygonatum odoratum* polysaccharides 0.2, 0.4 g/kg groups were significantly decreased (P < 0.05, 0.01, 0.001). Compared with model group, the levels of GSH and SOD in the *Polygonatum odoratum* polysaccharides 0.2, 0.4 g/kg groups were significantly increased, and the Fe^{2+} level were significantly decreased (P < 0.05, 0.01, 0.001), the MDA level in the *Polygonatum odoratum* polysaccharides 0.2 g/kg group was significantly decreased (P < 0.05). Compared with model group, the protein expression of Nrf2 in the *Polygonatum odoratum* polysaccharides 0.2, 0.4 g/kg group was significantly increased (P < 0.05, 0.01), the protein expression of Keap1 and GPX4 in the *Polygonatum odoratum* polysaccharides 0.4 g/kg group was significantly upregulated (P < 0.05), and the protein expression of FSP1 in the *Polygonatum odoratum* polysaccharides 0.2 group was significantly increased (P < 0.01). **Conclusion** *Polygonatum odoratum* polysaccharides prevents acetaminophen-induced acute liver injury by inhibiting hepatic ferroptosis and inflammatory responses through the regulation of the Nrf2 pathway.

Key words: *Polygonatum odoratum* polysaccharide; acute liver injury; ferroptosis; inflammation; Nrf2; Keap1; GPX4; FSP1

药物性肝损伤是临床上常见的肝脏疾病之一。对乙酰氨基酚广泛用于治疗疼痛和发热，但过量服用易导致肝损伤。据 2017 年美国食品药品管理局（FDA）统计，对乙酰氨基酚所致的急性肝功能衰竭占 46%，且每年因过量服用对乙酰氨基酚死亡的人数不少于 500 人[1]。在我国，含对乙酰氨基酚成分的化学药或复方中药制剂多达上百种，尤其是一些感冒治疗药物，多为非处方药，市场普遍且易于获取。因此，患者因同时服用多种含对乙酰氨基酚成分的药物而导致肝损伤的情况时有发生[2]。研究对乙酰氨基酚的解毒策略对我国具有重要意义。

对乙酰氨基酚在体内主要经 2 条途径代谢：70%～80%通过葡萄糖醛酸化和硫酸化在肝脏中代谢；另一途径中，过量的对乙酰氨基酚可激活肝细胞色素 P450（主要为 CYP2E1、CYP3A4、CYP1A2），导致有毒代谢物 *N*-乙酰基对苯醌亚胺积累[3-4]。*N*-乙酰基对苯醌亚胺在消耗谷胱甘肽（GSH）后与肝细胞蛋白和 DNA 共价结合，引发线粒体氧化应激和机体脂质代谢紊乱，最终导致严重肝毒性和肝细胞坏死[5]。因此，线粒体氧化应激在对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤中的作用成为新的研究热点。铁死亡是一种铁依赖性的脂质过氧化驱动的新型细胞死亡方式，在对乙酰氨基酚肝损伤中已被确认为肝细胞死亡的核心介导机制[6]。对乙酰氨基酚代谢产物 *N*-乙酰基对苯醌亚胺耗竭 GSH，导致谷胱甘肽过氧化物酶 4（GPX4）活性丧失，脂质过氧化物大量积累[7]；同时游离铁离子释放增加，通过 Fenton 反应加剧氧化应激，共同触发铁死亡[8]。核因子 E2 相关因子 2（Nrf2）信号通路是调控细胞铁死亡和线粒体氧化应激的关键转录因子。生理状态下，Kelch 样 ECH 相关蛋白 1（Keap1）与 Nrf2 结合，并通过泛素－蛋白酶体途径使其持续降解，维持 Nrf2 低水平。当受到氧化应激或亲电物质（如 *N*-乙酰基对苯醌亚胺）刺激后，Keap1 的半胱氨酸残基被修饰，构象改变，导致 Nrf2 释放并易位至细胞核，同时通过竞争性结合方式促使 Keap1-Nrf2 复合体解离，进而调节 Nrf2 信号通路[6-10]。活化的 Nrf2 与抗氧化应答元件（ARE）结合，上调下游靶基因 GPX4 和铁死亡抑制蛋白 1（FSP1）的表达。GPX4 利用 GSH 还原磷脂氢过氧化物（PLOOH），直接阻断铁死亡的执行环节；FSP1 则通过还原辅酶 Q10（CoQ10）抑制脂质过氧化，与 GPX4 形成互补的“双保险”防御。因此，在对乙酰氨基酚肝损伤中，Nrf2/Keap1 通过转录调控 GPX4 和 FSP1 的表达水平，成为决定细胞是否走向铁死亡的上游开关，而 GPX4 和 FSP1 则是下游直接执行抗铁死亡功能的关键效应蛋白。目前已有研究证实，多种药物在体外可通过上调 Nrf2 及其下游因子，改善急性肝损伤细胞中线粒体形态，调节氧化应激，抑制铁死亡的发生[5]。

玉竹多糖是药食同源植物玉竹 *Polygonatum odoratum* 根茎中的主要活性成分之一，具有抗氧化、抗炎、免疫调节等活性[11-14]。玉竹粗提物在肝损伤模型中具有显著的保护作用，可有效降低血清转氨酶水平、减轻肝细胞坏死与炎症浸润，并改善氧化应激状态，其机制可能与抑制肝脏的铁死亡发生相关[15]。因此，本研究将研究对象从玉竹粗提物进一步聚焦至其核心活性成分玉竹多糖，旨在基于 Nrf2 通路探讨玉竹多糖通过抑制铁死亡和炎症反应以预防对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

玉竹多糖（质量分数≥95%，批号 CYSW86479，

扶风慈缘生物科技有限公司，该多糖主要组分为果糖与葡萄糖，并含少量半乳糖、甘露糖及微量糖醛酸；提取工艺为传统水提醇沉结合 Sevag 法脱蛋白及 DEAE-纤维素柱层析纯化，其相对分子质量为 1.0×10^4～5.0×10^4）；对乙酰氨基酚（质量分数≥ 99.97%，货号 HY-66005，美国 MedChemExpress 生物科技公司）；*N*-乙酰半胱氨酸（货号 HY-B0215，美国 MedChemExpress 生物科技公司）；小鼠白细胞介素（IL）-1β ELISA 试剂盒（批号 E-EL-M0037，武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司）；小鼠 IL-6 双抗体夹心 ELISA 检测试剂盒（批号 KE10007，武汉三鹰生物技术有限公司）；小鼠肿瘤坏死因子-α（TNF-α）双抗体夹心 ELISA 检测试剂盒（批号 KE10002，武汉三鹰生物技术有限公司）；丙氨酸氨基转移酶（ALT）测定试剂盒（IFCC 法）（批号 140124009，深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司）；天门冬氨酸氨基转移酶（AST）测定试剂盒（IFCC 法）（批号 140224004，深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司）；乳酸脱氢酶（LDH）测定试剂盒（IFCC 法）（批号 142723011，深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司）；微量还原型 GSH 检测试剂盒（批号 A006-2-1，南京建成生物工程研究所有限公司）；丙二醛（MDA）检测试剂盒（批号 A003-1，南京建成生物工程研究所有限公司）；超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒（批号 A001-3，南京建成生物工程研究所有限公司）；亚铁离子比色检测试剂盒（批号 E-BC-K773-M，武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司）；Nrf2 抗体[批号 T55136，艾比玛特医药科技（上海）有限公司]；FSP1 抗体（批号 M06541，武汉博士德生物工程有限公司）；Anti-GPX4 抗体（批号 BM5231，武汉博士德生物工程有限公司）。

超高灵敏度化学发光成像仪、小型垂直电泳仪（Bio-Rad Laboratories），高速低温组织研磨仪、转膜仪（武汉赛维尔生物科技有限公司），超声破碎仪（Sonics&Materials）、全自动生化分析仪（深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司）、纯水仪（ELGA LabWater）、全自动酶标仪（赛默飞世尔科技公司）、冰冻高速离心机（德国艾本德股份公司）、石蜡切片机（Leica Camera AG）、电子天平[梅特勒－托利多仪器（上海）有限公司]、正置显微镜（奥林巴斯株式会社）。

1.2　动物模型与分组及处理

1.2.1　动物　30 只 C57BL/6J 小鼠，雄性，6～8 周龄，体质量（20±2）g，购自江苏华创信诺医药科技有限公司，许可证号 SYXK（苏）2025-0055。小鼠饲养于 SPF 级实验动物屏障设施内，环境温度（22±2）℃，湿度 50%～60%，光照周期 12 h/12 h（光照时间 7:00～19:00 时），自由摄食 SPF 级维持饲料与灭菌纯化水。所有小鼠适应性饲养 7 d 后进行实验。实验操作严格遵循中华人民共和国《实验动物管理条例》。本实验已获得桂林医科大学实验动物伦理委员会批准（伦理审批号 GLMU-IACUC-202510134）。

1.2.2　动物处理及药物浓度选择　将小鼠随机分为 6 组，每组 5 只。对照组和模型组每天按体质量 ig 相应剂量的蒸馏水；*N*-乙酰半胱氨酸组每天按体质量 ig 100 mg/kg 的 *N*-乙酰半胱氨酸[16]；按体表面积等效系数换算（以 20 g 小鼠与 60 kg 成人计，系数为 12.3），玉竹多糖（0.2、0.4、0.8 g/kg）组分别按体质量 ig 0.2、0.4、0.8 g/kg 的玉竹多糖[17-19]。连续 ig 3 d 后，末次给药前禁食不禁水 16 h。末次给药 1 h 后，ip 对乙酰氨基酚 300 mg/kg 建立模型。24 h 后称重，眼球取血，血液室温静置 1 h 后，3 000 r/min 离心 15 min，取血清，−80 ℃保存用于后续指标测定。取血后，小鼠颈椎脱臼处死，沿腹中线剖开腹腔，取出肝脏，置于预冷生理盐水中清洗干净，滤纸吸干水分，称量肝脏质量。肝组织分为两部分保存：一部分液氮速冻后保存于−80 ℃冰箱，另一部分置于 4%多聚甲醛溶液中固定，用于病理切片制作。

1.3　检测指标

1.3.1　血清肝功能指标测定　小鼠眼球采血，室温静置 1 h，4 ℃、3 000 r/min 离心 15 min，收集血清。血清化指标 AST、ALT、LDH 按照试剂盒说明书使用全自动生化仪进行检测。

1.3.2　肝组织病理检测　小鼠的肝组织称重后置于 4%多聚甲醛溶液中固定。固定好的组织流水冲洗 3 次，每次 20 min，最后 1 次置于摇床上过夜，第 2 天倒掉，加入 75%乙醇置于−4 ℃冰箱中保存。使用时，经梯度乙醇脱水，二甲苯 I、II 透明（各 17 min）后浸蜡包埋。包埋好的组织经切片、展片、捞片后烤片脱蜡复水，再以苏木素－伊红（HE）染色后脱水封片，显微镜下观察肝组织形态学变化，评估肝坏死面积和炎症浸润。评分标准为（1）肝窦充血：反映血管充血程度，0 分为无充血，4 分为重度弥漫性充血；（2）肝细胞坏死：评估坏死范围与程

度，0 分为无坏死，4 分为大面积融合性坏死；（3）气球样变性：观察肝细胞水肿变性，0 分为无变性，4 分为重度广泛气球样变[20]。

1.3.3 氧化应激与铁死亡指标测定 按照组织块质量与匀浆介质的体积 1∶9 的比例加入匀浆介质，在 4 ℃、600×*g* 下离心 10 min，获得上清液。使用试剂盒按照说明书测定肝组织 MDA、GSH、SOD、亚铁离子含量。

1.3.4 ELISA 检测炎症因子水平 按照试剂盒说明书要求将肝组织原液稀释至合适倍数后，按照实验步骤检测 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平。

1.3.5 Western blotting 检测肝组织 Nrf2 途径相关蛋白表达变化 取肝组织约 50 mg，加入含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液冰上匀浆，4 ℃、12 000×*g* 离心 15 min 取上清，BCA 法测定蛋白浓度后加入 5×SDS 上样缓冲液，100 ℃煮沸 10 min 变性，每泳道按 30 μg 总蛋白上样；根据目标蛋白相对分子质量配制 8%～12% SDS-PAGE 分离胶，先以 80 V 恒压电泳 30 min 通过浓缩胶，再以 120 V 恒压电泳 60～90 min 至溴酚蓝到达凝胶底部；电泳结束后采用湿转法，将蛋白转移至 0.45 μm PVDF 膜（甲醇活化），使用免冰浴快速转膜液恒流 400 mA 转膜 30 min；转膜后以 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h，TBST 洗膜后加入一抗 Nrf2（1∶1 000）、Keap1（1∶10 000）、FSP1（1∶1 000）、GPX4（1∶2 000）、GAPDH（1∶5 000）4 ℃孵育过夜；次日 TBST 洗膜后加入 HRP 标记二抗（1∶5 000），室温孵育 1～2 h，TBST 充分洗膜后滴加 ECL 超敏化学发光底物，于化学发光成像系统中曝光显影；使用 Image J 软件对条带进行灰度分析，以 GAPDH 为内参计算目标蛋白相对表达量，结果以正常对照组为基准归一化。

1.4 统计分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组比较采用单因素方差分析（One-way ANOVA）及 Tukey 事后检验。

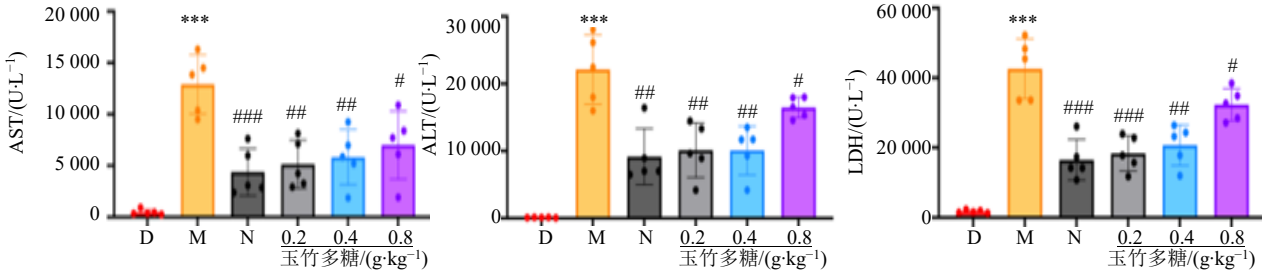
2 结果

2.1 玉竹多糖对对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝功能指标和肝损伤外观的影响

与模型组比较，玉竹多糖各剂量组 AST、ALT、LDH 水平均显著降低（P＜0.05、0.01、0.001），见图 1。从肝脏外观来看，对照组肝脏呈均匀鲜亮的红褐色，表面光滑无坏死灶；模型组肝脏色泽较为暗沉，全肝表面密布大量白色针尖样坏死斑点，提示弥漫性肝实质损伤；*N*-乙酰半胱氨酸组肝脏颜色暗红，全肝表面密布虽仍有白色针尖样坏死斑点，但斑点面积数量肉眼可见较模型组减少，提示其具有一定的预防效果；玉竹多糖各剂量组肝脏色泽可见鲜亮的红褐色，肝脏表面坏死斑点数量和面积较模型组均不同程度的减轻，其中玉竹多糖 0.8 g/kg 组肝脏仍可见白色针尖样坏死斑点，但面积及数量较模型组已显著减少，而玉竹多糖 0.2、0.4 g/kg 组的肝脏色泽、光滑度已基本恢复至接近对照组的正常状态，表面无明显白色针尖样坏死斑点。见图 2。

2.2 玉竹多糖对对乙酰氨基酚诱导的肝损伤中肝组织病理的影响

对照组组织学分析显示全片染色均匀致密、肝脏结构完整：肝细胞沿中央静脉呈放射状排列，肝索清晰可见，肝窦正常，未见坏死、变性、炎性浸润或纤维化。与对照组相比，模型组出现显著的肝窦扩张伴充血、广泛炎性细胞浸润以及多灶性肝细胞嗜酸性变性，可见大量透亮溶解坏死区，坏死面积占肝实质接近 50%～60%，属于典型融合性中央区坏死，肝索结构大范围解离；重度肝窦扩张淤血，红细胞广泛外溢；大量蓝染炎性细胞在坏死区弥漫



D-对照，M-模型，N-*N*-乙酰半胱氨酸；与 D 组比较：$^{***}P$＜0.001；与 M 组比较：$^{\#}P$＜0.05 $^{\#\#}P$＜0.01 $^{\#\#\#}P$＜0.001。
D-controlgroup, M-model group, N-acetylcysteine group, $^{***}P$ < 0.001 *vs* D group; $^{\#}P$ < 0.05 $^{\#\#}P$ < 0.01 $^{\#\#\#}P$ < 0.001 *vs* M group.

图 1 各组小鼠血清 AST、ALT、LDH 水平（$\bar{x} \pm s$，$n = 5$）

Fig. 1 Levels of AST, ALT, and LDH in the serum of each group of mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

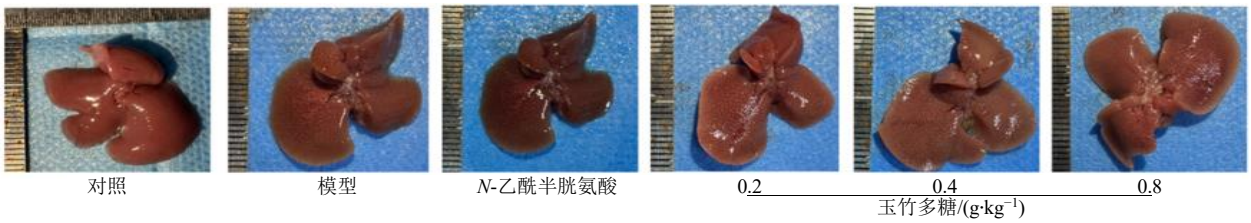


图 2　各组小鼠肝脏大体形态代表性照片

Fig. 2　Representative photos of the gross morphology of the livers of each group of mice

性浸润。玉竹多糖 0.2 g/kg 组可显著逆转这些病理改变，全片几乎无大面积坏死区，仅能观察到零星点状肝细胞变性，坏死总面积 5%；仅见极少量散在红细胞，无明显淤血；无大量炎性细胞聚集表现，肝组织结构完整性已接近对照组。玉竹多糖 0.4 g/kg 组可见散在斑片状淡染坏死灶，坏死总面积占 20%～30%，无大片融合坏死；肝窦仅轻度扩张，局灶少量红细胞渗出；炎性细胞仅在零散坏死灶周边局灶聚集，无弥漫性浸润。玉竹多糖 0.8 g/kg 组全片可见较大范围的融合性坏死液化区（图中淡染苍白透亮区域），坏死面积约占肝实质的 30%～40%，中央静脉周围的肝细胞大量溶解消失，仍可观察出明显的对乙酰氨基酚诱导的典型坏死特征；*N*-乙酰半胱氨酸组肝组织的整体结构基本保留，坏死面积不大，但仍然可以散在观察到部分的灶性坏死区（淡染区域）、轻度肝窦扩张和红细胞渗出，以及局部的炎性细胞聚集，部分坏死区域可见崩解，见图 3。将每组切片进行 Suzuki 评分，与模型组比较，玉竹多糖 0.2、0.4 g/kg 组 Suzuki 评分均显著降低（$P<0.01$、0.001），而玉竹多糖 0.8 g/kg 组的评分无明显差异，见图 4。综合上述结果，发现玉竹多糖 0.8 g/kg 组虽可以降低肝损伤小鼠血清里 AST、ALT、LDH 的指标变化，但病理切片及 Suzuki 评分来看，其并未展现出良好的预防效果，且 *N*-乙酰半胱氨酸组无论是血清 AST、ALT、LDH 水平还是病理切片及 Suzuki 评分均与玉竹多糖 0.2、0.4 g/kg 组接近，考虑到后续机制探讨中 *N*-乙酰半胱氨酸作用机制可能与玉竹多糖有异，后续指标并未将玉竹多糖 0.8 g/kg 组和 *N*-乙酰半胱氨酸组纳入检测当中。

2.3　玉竹多糖对对乙酰氨基酚诱导的肝脏炎症反应的影响

ELISA 结果显示，与模型组比较，玉竹多糖（0.2、0.4 g/kg）组 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平均显著下降（$P<0.05$、0.01、0.001），见图 5。表明玉竹多糖能有效抑制炎症模型诱导的促炎因子过度释放。

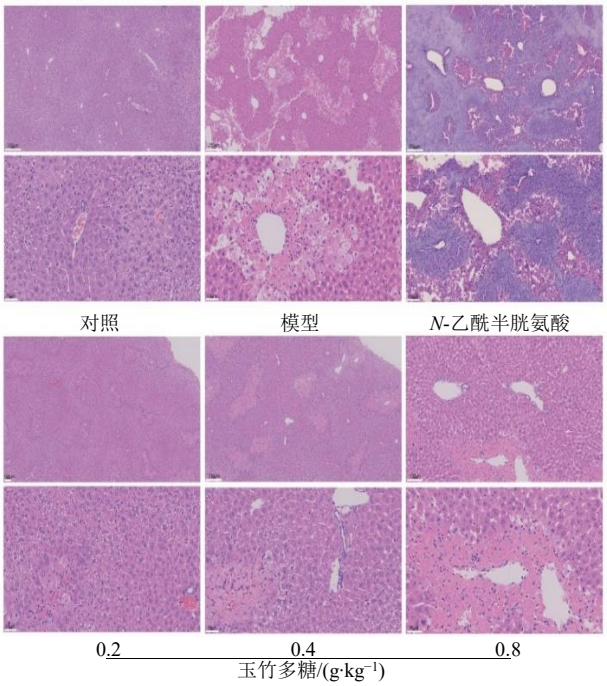
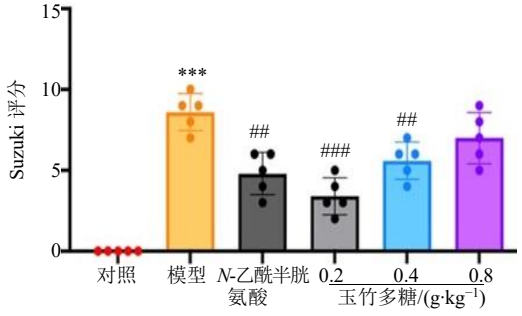


图 3　各组小鼠肝脏病理切片 HE 染色代表图（×400）

Fig. 3　Representative images of HE staining of liver sections from each group of mice (×400)

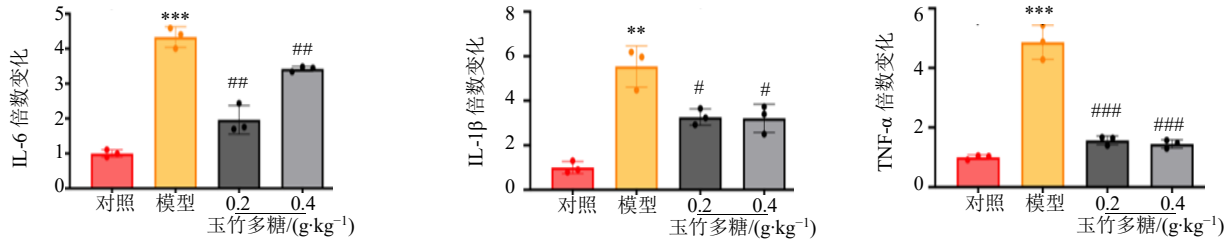


与对照组比较：$^{***}P<0.001$；与模型组比较：$^{\#\#}P<0.01$　$^{\#\#\#}P<0.001$。

$^{***}P < 0.001$ *vs* control group; $^{\#\#}P < 0.01$　$^{\#\#\#}P < 0.001$ *vs* model group.

图 4　各组小鼠肝脏病理切片 HE 染色 Suzuki 评分（$\bar{x} \pm s$，$n = 5$）

Fig. 4　HE-stained liver pathological sections of each group of mice and Suzuki scores ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)



与对照组比较：$^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$；与模型组比较：$^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$ $^{\#\#\#}P<0.001$。

$^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$ *vs* control group; $^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$ $^{\#\#\#}P<0.001$ *vs* model group.

图 5 各组小鼠血清 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平变化（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

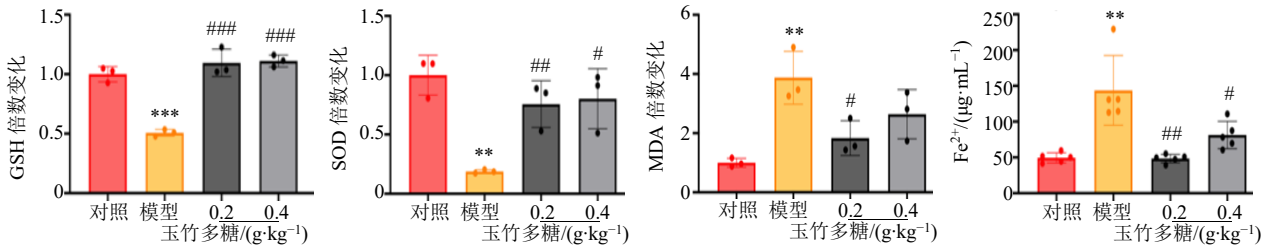
Fig. 5 Changes in serum levels of IL-1β, IL-6, and TNF-α in each group of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

2.4 玉竹多糖对对乙酰氨基酚诱导的肝脏氧化应激和亚铁离子积累的影响

与模型组相比，玉竹多糖（0.2 、0.4 g/kg）组 GSH、SOD 水平显著上升，Fe^{2+}水平显著降低（$P<0.05$、0.01、0.001）；玉竹多糖 0.2 g/kg 组 MDA 显著降低（$P<0.05$）。结果表明，玉竹多糖可有效恢复机体抗氧化能力、抑制脂质过氧化与铁过载，对对乙酰氨基酚诱导的氧化应激损伤具有明确的改善作用，见图 6。

2.5 玉竹多糖对铁死亡相关蛋白表达的影响

与模型组相比，玉竹多糖（0.2、0.4 g/kg）组的 Nrf2 蛋白相对表达量显著升高（$P<0.05$、0.01）；玉竹多糖 0.4 g/kg 组 Keap1、GPX4 蛋白相对表达量显著上调（$P<0.05$），玉竹多糖 0.2 g/kg 组 FSP1 蛋白表达量显著升高（$P<0.01$）。结果提示，玉竹多糖的干预效应与调控 Nrf2/Keap1 通路、上调下游铁死亡抑制蛋白 FSP1 与 GPX4 的表达密切相关，见图 7。



与对照组比较：$^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$；与模型组比较：$^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$ $^{\#\#\#}P<0.001$。

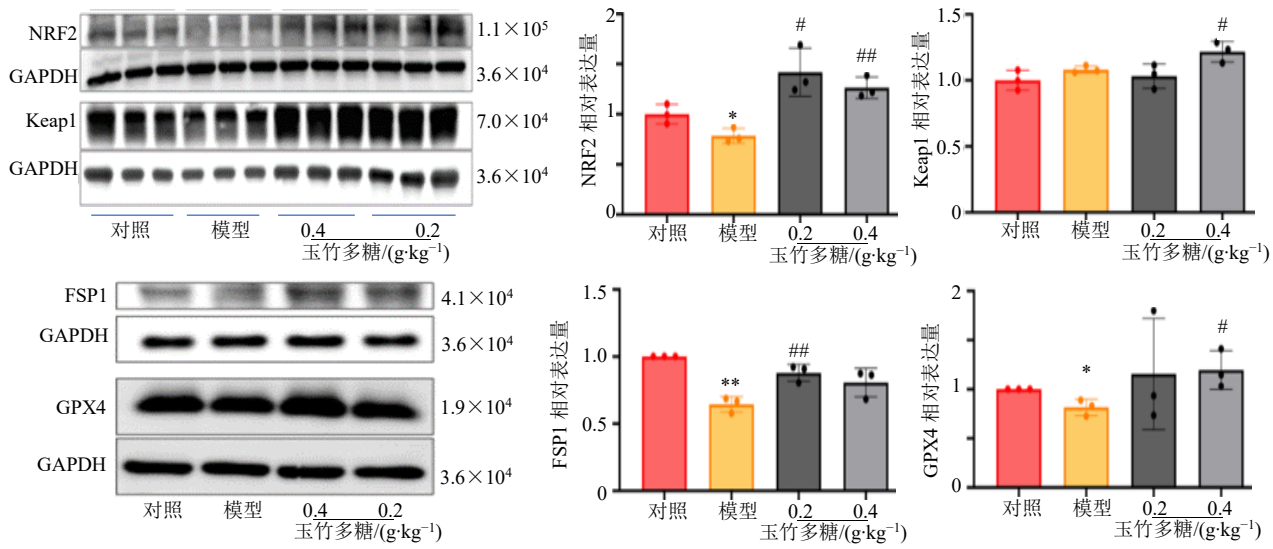
$^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$ *vs* control group; $^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$ $^{\#\#\#}P<0.001$ *vs* model group.

图 6 玉竹多糖对肝脏氧化应激和亚铁积累的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

Fig. 6 Effects of *Polygonatum odoratum* polysaccharides on liver oxidative stress and iron accumulation ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3 讨论

本研究发现玉竹多糖可通过调节 Nrf2 信号通路抑制肝脏铁死亡，从而有效预防对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤。这一发现为对乙酰氨基酚肝毒性的防治提供了全新的分子靶点和天然药物候选。但在研究过程中在剂量筛选阶段发现，玉竹多糖各剂量组均能显著降低血清 ALT、AST、LDH 水平，但玉竹多糖 0.8 g/kg 组对 3 项生化指标的改善程度略有减弱，提示在本实验体系中，玉竹多糖的保护效应在 0.4 g/kg 以上剂量出现“平台期”现象。类似高剂量效应钝化在植物多糖研究中并非罕见[21-22]。其可能与以下机制有关：（1）多糖为高分子聚合物，高剂量下肠道转运蛋白可能趋于饱和，导致跨膜吸收效率下降，生物利用度降低；（2）多糖在肠道中被菌群过度酵解，产生短链脂肪酸，可能诱发局部低度炎症或氧化应激，部分抵消其保护效应[23]；（3）多糖的免疫调节和抗氧化活性存在“双相性”，即中等剂量通过 Toll 样受体 4（TLR4）/核因子-κB（NF-κB）或 Nrf2/ARE 通路产生适度激活效应保护细胞，而过高剂量可能因过度刺激导致信号通路负反馈抑制甚至细胞应激[24]。基于上述现象，本研究将机制验证阶段聚焦于保护效应更稳健的玉竹多糖 0.2、0.4 g/kg 组，而 0.8 g/kg 组仅作为上限参考剂量用于趋势观察。这一量效平台期为玉竹多糖的临床前给



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 7　玉竹多糖对 NRF2 通路及其下游 GPX4、FSP1 蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

Fig. 7　Effects of *Polygonatum odoratum* polysaccharides on the NRF2 pathway and the expression of its downstream proteins GPX4 and FSP1 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

药剂量优化提供了重要参考，提示其保肝活性的最佳窗口为中低剂量区间，而非盲目提高剂量。未来可通过药动学研究及多时间点动态观测，进一步阐释高剂量下效应钝化的分子机制。

本研究发现，玉竹多糖预处理能够显著上调肝脏中 Nrf2 的蛋白水平，并促进其与 Keap1 复合体的解离，从而增强 Nrf2 的转位及其下游靶基因的转录活性。具体而言，玉竹多糖通过调节 Nrf2，显著提升了 GPX4 和 FSP1 的表达水平，这两者分别通过还原磷脂氢过氧化物和利用 NAD（P）H 直接抑制脂质过氧化，形成双重抗氧化防线。同时，Nrf2 还减少细胞内不稳定铁池的积累，从而从源头抑制铁依赖的氧化损伤。研究显示，玉竹多糖处理后，模型小鼠肝组织中脂质过氧化标志物 MDA 显著降低，Fe^{2+}含量下降，而 GSH 水平回升，铁死亡的关键执行蛋白 GPX4 和 FSP1 表达恢复，表明玉竹多糖有效阻断了铁死亡的发生。

此外，玉竹多糖还显著抑制了炎症因子（IL-1β、IL-6、TNF-α）的释放。这一抗炎效应可能与铁死亡抑制后减少损伤相关分子模式（DAMPs，如 HMGB1、ATP、线粒体 DNA 等）的释放有关[25]。铁死亡细胞会释放大量 DAMPs，激活 TLR4/髓分化因子 88（MyD88）等炎症通路[26]，而玉竹多糖通过阻断铁死亡，间接削弱了炎症级联反应，从而形成“抗氧化－抗炎”协同保护机制。值得注意的是，Nrf2 本身也具有直接抗炎功能，可通过抑制 NF-κB 通路进一步降低促炎因子的转录，因此玉竹多糖可能通过 Nrf2 同时调控氧化应激和炎症反应，实现双重保护。

综上所述，本研究揭示了玉竹多糖通过调节 Nrf2/Keap1 通路、上调 GPX4/FSP1 抑制肝脏铁死亡和炎症反应从而减轻对乙酰氨基酚肝损伤的作用机制，并提出了其可能兼具抗炎效应的协同调控网络。这一发现不仅阐明了玉竹多糖的肝保护新机制，也为开发基于天然多糖的铁死亡干预策略提供了理论依据，具有重要的临床转化潜力。未来可进一步探索玉竹多糖的构效关系、给药途径优化及其在慢性肝病中的应用前景。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Lee W M. Acetaminophen (APAP) hepatotoxicity-Isn't it time for APAP to go away? [J]. *J Hepatol*, 2017, 67(6): 1324-1331.

[2] Serper M, Wolf M S, Parikh N A, *et al*. Risk factors, clinical presentation, and outcomes in overdose with acetaminophen alone or with combination products: Results from the Acute Liver Failure Study Group [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2016, 50(1): 85-91.

[3] Heruth D P, Shortt K, Zhang N, *et al*. Genetic association of single nucleotide polymorphisms with acetaminophen-induced hepatotoxicity [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 367(1): 95-100.

[4] Xu Y, Xia Y, Liu Q H, *et al*. Glutaredoxin-1 alleviates acetaminophen-induced liver injury by decreasing its toxic metabolites [J]. *J Pharm Anal*, 2023, 13(12): 1548-1561.

[5] Guo L, Ma J T, Xiao M X, *et al*. The involvement of the STAT1/Nrf2 pathway in exacerbating crizotinib-induced liver injury: implications for ferroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(8): 600.

[6] Zhou M L, Gong L H, Yu Y J, *et al*. Forsythiaside A ameliorates acetaminophen-induced liver injury by suppressing ferroptosis through activating USP11/SIRT3-mediated mitophagy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2026, 358: 120987.

[7] Jaeschke H, Ramachandran A. Acetaminophen hepatotoxicity: Paradigm for understanding mechanisms of drug-Induced liver injury [J]. *Annu Rev Pathol*, 2024, 19: 453-478.

[8] Cao P, He P J, Du K, *et al*. Ferroptosis in liver biology and diseases [J]. *Hepatol Commun*, 2026, 10(10): e1058.

[9] 冯志强, 王腾飞, 赵善江, 等. Nrf2/Keap1-ARE 通路的生物学功能及其信号调控 [J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(1): 81-90.

[10] 高雅然, 胡明, 吕佩源. 选择性自噬接头蛋白 p62 与 Keap1-Nrf2 信号通路在神经退行性疾病中的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2020, 47(4): 439-442.

[11] 刘学铭, 王思远, 黄建伟, 等. 玉竹的化学成分、药理作用及其食品开发研究进展 [J]. 食品与药品, 2024, 26(2): 203-212.

[12] Li Y, Liu Y, Liu M, *et al*. *Polygonatum odoratum* fermented polysaccharides enhance the immunity of mice by increasing their antioxidant ability and improving the intestinal flora [J]. *Food Biosci*, 2024, 58: 103650.

[13] 朱琪, 李庚喜, 曾立, 等. 玉竹多糖对高脂饮食诱导的大鼠肥胖和非酒精性脂肪肝的作用 [J]. 中成药, 2021, 43(6): 1612-1617.

[14] 杨桐, 陈江, 张雪, 等. 分级醇沉玉竹多糖的结构表征及其抗糖尿病活性研究 [J]. 中草药, 2025, 56(17): 6121-6136.

[15] 肖作奇, 邱盼子, 欧阳波. 玉竹多糖对油酸诱导的 HepG2 脂肪堆积的改善作用及作用机制研究 [J]. 中医药导报, 2021, 27(11): 46-49.

[16] Akakpo J Y, Jaeschke M W, Ramachandran A, *et al*. Delayed administration of *N*-acetylcysteine blunts recovery after an acetaminophen overdose unlike 4-methylpyrazole [J]. *Arch Toxicol*, 2021, 95(10): 3377-3391.

[17] Nair A B, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human [J]. *J Basic Clin Pharm*, 2016, 7(2): 27-31.

[18] Guo L D, Zhang W N, Yu C M, *et al*. *Polygonatum odoratum* polysaccharides: A comprehensive review of bioaccumulation, extraction, structure characteristics, bioactivities and application [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 327(Pt 1): 147334.

[19] Sun W N, Wang J L, Wang R S, *et al*. *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce: A review of traditional uses, phytochemistry, mass spectrometric fragmentation, pharmacology, toxicology, and Q-marker prediction [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2026, 20: 631981.

[20] Suzuki S, Toledo-Pereyra L H, Rodriguez F J, *et al*. Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine [J]. *Transplantation*, 1993, 55(6): 1265-1272.

[21] Yu J J, Fu W J, Wang X Y, *et al*. Study on the mechanism of different doses of *Lycium barbarum* polysaccharides affecting sperm motility in *Drosophila melanogaster* [J]. *Reprod Toxicol*, 2025, 137: 109034.

[22] Yu J X, Li W, Xu Y J, *et al*. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids (SCFAs): Immunomodulatory effects and therapeutic potential in infections [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2026, 39(3): e0036825.

[23] Cui J M, Wang Y P, Kim E, *et al*. Structural characteristics and immunomodulatory effects of a long-chain polysaccharide from *Laminaria japonica* [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 762595.

[24] Hou Y C, Wu J M, Wang M Y, *et al*. Modulatory effects of *Astragalus polysaccharides* on T-cell polarization in mice with polymicrobial sepsis [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 826319.

[25] Li Z X, Xu M G, Zhang Y H, *et al*. Dibutyl phthalate exposure-induced AhR activation drives ferroptosis and HMGB1/TLR4-mediated inflammatory liver injury via NRF2-HO-1 signaling [J]. *Environ Pollut*, 2026, 398: 128010.

[26] Tang D L, Kroemer G, Kang R. Ferroptosis in immunostimulation and immunosuppression [J]. *Immunol Rev*, 2024, 321(1): 199-210.

[责任编辑 高源]