

基于 CYP2E1 和 SIRT1/PGC-1 α 信号通路探讨同仁乌鸡白凤丸治疗酒精性肝病的作用机制

刘 丹¹, 张思玉¹, 朱晓光¹, 李晋生¹, 陈 霞^{2*}, 张朝华^{1*}

1. 北京同仁堂股份有限公司科学研究所, 北京 100079

2. 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 北京 100079

摘要: **目的** 探讨同仁乌鸡白凤丸(WJBF)对酒精性肝病的治疗作用及作用机制。**方法** 雌性 C57BL/6N 小鼠随机分为 6 组: 对照组、模型组、水飞蓟素(阳性药, 63 mg·kg⁻¹) 组和 WJBF 高、中、低剂量(5.40、2.70、1.35 g·kg⁻¹) 组, 除对照组外, 其余组采用 Lieber-DeCarli 液体饲料复制酒精性肝病小鼠模型。观察 WJBF 对模型小鼠体质量、肝脏指数和肝脏病理改变的影响; 试剂盒法测定血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC) 指标的含; 取小鼠肝脏组织并测定肝脏组织中 TC、TG、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、乙醇脱氢酶(ADH)、乙醛脱氢酶(ALDH) 以及 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG) 水平; 用 Western blotting 法测定肝脏组织中细胞色素 P4502E1(CYP2E1)、沉默信息调节因子(SIRT1) 和过氧化物酶增殖激活受体- γ 共激活子-1 α (PGC-1 α) 蛋白表达水平。**结果** 与模型组相比, WJBF 中剂量能明显减缓模型小鼠体质量降低($P<0.01$); WJBF 中、低剂量能明显降低模型小鼠肝脏指数($P<0.05$ 、 0.01); WJBF 高、中、低剂量能明显降低模型小鼠血清 ALT 和 AST 活性($P<0.05$ 、 0.01); WJBF 高、中、低剂量能明显降低血清和肝脏组织中 TG 水平($P<0.01$); WJBF 能明显改善模型小鼠肝脏组织病理学变化; WJBF 高、中、低剂量能明显升高模型小鼠肝脏组织中 ADH 和 ALDH 的活性($P<0.05$ 、 0.01); WJBF 中、低剂量能明显升高模型小鼠肝脏组织内 SOD 活性($P<0.05$); WJBF 高、中、低剂量能明显降低模型小鼠肝脏组织中 MDA 水平($P<0.01$); WJBF 高、中、低剂量能明显降低肝脏组织中 8-OHdG 水平($P<0.01$); WJBF 高、中、低剂量能明显降低模型小鼠肝脏组织中代谢酶 CYP2E1 表达水平($P<0.05$ 、 0.01); WJBF 高剂量能明显升高模型小鼠肝脏组织中 SIRT1 蛋白表达水平($P<0.05$); WJBF 高、中、低剂量能明显升高模型小鼠肝脏组织中 PGC-1 α 蛋白表达水平($P<0.01$)。**结论** WJBF 对酒精性肝病有较好的治疗作用, 其作用机制与药物加快酒精在体内代谢、抑制肝组织中代谢酶 CYP2E1、激活 SIRT1/PGC-1 α 信号通路有关。

关键词: 同仁乌鸡白凤丸; 小鼠; 酒精性肝病; CYP2E1; SIRT1; PGC-1 α

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)12-3484-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.12.007

Mechanism of Tongren Wuji Baifeng Pill in treatment of alcoholic liver disease based on CYP2E1 and SIRT1/PGC-1 α signaling pathways

LIU Dan¹, ZHANG Siyu¹, ZHU Xiaoguang¹, LI Jinsheng¹, CHEN Xia², ZHANG Zhaohua¹

1. Beijing Tongrentang Technologies Development Co., Ltd., Scientific Research Institute, Beijing 100079, China

2. Beijing Tongrentang Technologies Development Co., Ltd. Pharmaceutical Factory, Beijing 100079, China

Abstract: Objective To explore the therapeutic effects and mechanisms of Tongren Wuji Baifeng Pill (WJBF) on alcoholic liver disease. **Methods** Female C57BL/6N mice were randomly divided into six groups: control group, model group, silymarin (63 mg·kg⁻¹) group, and WJBF high, medium, and low dose (5.40, 2.70, 1.35 g·kg⁻¹) groups. Except for the control group, the other groups were treated with Lieber DeCarli liquid feed to replicate the alcoholic liver disease mouse model. The effects of WJBF on body weight, liver coefficient, and histopathological changes in the liver were observed. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), triglycerides (TG), and total cholesterol (TC) were measured; Liver tissues were collected to

收稿日期: 2025-07-08

基金项目: 北京市科技计划资助项目(Z241100009024041)

作者简介: 刘 丹, 本科, 工程师, 研究方向为中药药理学。E-mail: ld851031@sina.com

*通信作者: 陈 霞, 硕士, 研究员, 研究方向为中药药理学。E-mail: jiumeionlyone@163.com

张朝华, 本科, 高级工程师, 研究方向为中药制药。E-mail: trtgmp@163.com

determine levels of TC, TG, superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), ethanol dehydrogenase (ADH), aldehyde dehydrogenase (ALDH) and 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG); Western blotting was used to determine the protein expression levels of cytochrome P4502E1 (CYP2E1), silencing information regulatory factor (SIRT1), and peroxisome proliferator activated receptor- γ co-activator-1 α (PGC-1 α) in liver tissue. **Results** Compared with the model group, the medium dose of WJBF significantly slowed down the reduction in body weight ($P < 0.01$); Both medium and low doses significantly reduced the liver coefficient ($P < 0.05$, and 0.01); All doses significantly decreased serum ALT and AST activity ($P < 0.05$, and 0.01); All doses significantly lowered serum and liver tissue TG levels ($P < 0.01$); WJBF significantly improved histopathological changes in liver tissues; All doses significantly increased ADH and ALDH activity in liver tissues ($P < 0.05$, and 0.01); Medium and low doses significantly increased SOD activity in liver tissues ($P < 0.05$); All doses significantly decreased MDA levels in liver tissues ($P < 0.01$); All doses significantly reduced 8-OHdG levels in liver tissues ($P < 0.01$); All doses significantly decreased CYP2E1 expression in liver tissues ($P < 0.05$, and 0.01); The high dose significantly increased SIRT1 protein expression in liver tissues ($P < 0.05$); All doses significantly increased PGC-1 α protein expression in liver tissues ($P < 0.01$). **Conclusion** WJBF has good therapeutic effects on alcoholic liver disease, which may be related to its ability to accelerate alcohol metabolism, inhibit metabolic enzyme CYP2E1 in liver tissue, and activate the SIRT1/PGC-1 α signaling pathway.

Key words: Tongren Wuji Baifeng Pill; mice; alcoholic liver disease; CYP2E1; SIRT1; PGC-1 α

酒精性肝病 (ALD) 是由于长期大量饮酒导致的肝脏疾病。世界卫生组织在《2018 年全球酒精与健康状况报告》中指出, 2016 年因酒精死亡人数占全球总死亡人数的 5.3%, 在中国, 酒精消费增幅达 76%, ALD 比例翻倍, 6% 的男士死于饮酒^[1]。随着社会飞速发展及社交应酬增加, 酗酒者不断增多, 导致 ALD 有迅速增加的趋势, ALD 已成为全球第二大肝病^[2]。ALD 除酒精引起的肝脏损伤外, 还可导致营养不良、骨质疏松、脑血管意外等, 严重威胁人类健康, 并对社会造成巨大的经济负担^[3]。现代医学在治疗上多采用戒酒及营养支持, 加以保肝类药物辅治为主, 尚缺乏针对性的药物^[4]。近几年, 中医药在治疗 ALD 上凸显出一定优势, 中医药通过辨证论治及方药干预, 可在一定程度上改善患者临床症状, 有效缓解肝脏炎症损伤, 延缓疾病进展^[5]。同仁乌鸡白凤丸 (WJBF) 源自明代龚廷贤《寿世保元》所载经典方剂“乌鸡丸”, 经后世医家及制药企业对处方不断的配伍调整、药味配比优化、药材炮制、工艺改良后, 形成现代的成方制剂。现代研究表明, 与 WJBF 组方和功能主治高度类似的乌鸡白凤丸不仅能调节女性内分泌系统, 还具有肝保护和调节脂质代谢等的广泛药理学作用^[6-8]。因此, 本研究根据 ALD 发病的病理生理特点以及疾病干预的关键环节, 对 WJBF 治疗 ALD 的药理学作用特点进行评价, 并从酒精代谢及氧化应激等角度探讨药物的作用机制, 为该药用于治疗 and 干预 ALD 提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

C57BL/6N 小鼠, SPF 级, 雌性, 体质量 17~20 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司。实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0006。合格证编号 110011211104438132。实验动物饲养于 SPF 级动物室内, 日光灯照明, 12 h 明暗周期, 自由饮水、饮食, 温度 20~26 °C, 湿度 40%~70%。所有实验都得到了实验动物福利伦理委员会的批准, 伦理审批号 YJY-2021-042601。

1.2 药物与主要试剂

WJBF, 北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂, 批号 20010795; 水飞蓟素胶囊, MADAUS GMBH 公司, 批号 B1903201; Lieber DeCarli 酒精液体饲料, 购自戴茨生物科技 (无锡) 有限公司, 批号 20210320; 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) /GPT、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) /GOT、三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 试剂盒, 批号分别为 20210507、20210506、20210118、20210508、20210719、20210722, 南京建成生物工程研究所; 8-羟基脱氧鸟苷 (8-OHdG) (批号 07/2021)、乙醇脱氢酶 (ADH) 和乙醛脱氢酶 (ALDH) (批号均为 Oct 2021) ELISA 试剂盒, 上海江莱生物科技有限公司; 4% 组织细胞固定液, 北京百瑞极生物科技有限公司, 批号 20210418; 乙醇, 北京化工厂, 批号 20190118; 细胞色素 P4502E1 (CYP2E1) 抗体, 爱必信 (上海) 生物科技有限公司, 货号 abs136403; 沉默信息调节因子 (SIRT1)

抗体、 β -actin 抗体, 货号分别为 9475S、4970S, Cell Signaling Technology 公司; 过氧化物酶增殖激活受体- γ 共激活子-1 α (PGC-1 α) 抗体, 武汉博士德生物公司, 货号 BST17304898。

1.3 仪器

Epoch2 酶标仪, 美国 BioTek 公司; Odyssey FC 近红外双色激光和化学发光双功能成像系统, 美国 LICOR 公司; Bio-Rad 小型垂直电泳转印系统, 美国伯乐公司; ST5010 全自动组织切片染色机, 德国 Leica 公司; BX61 光学显微镜, 日本 Olympus 公司。

2 方法

2.1 Lieber DeCarli 液体饲料配制

参照文献报道^[9], 该配方热量为 4.184 kJ·mL⁻¹, 其中 35% 来源于脂肪, 11% 来源于碳水化合物, 18% 来源于蛋白质, 酒精性饲料中酒精占总热卡的 36%, 而无酒精饲料使用等热量的麦芽糊精替代酒精高脂饲料中的酒精。每天下午 4:00 时配制液体性饲料, 用 95% 乙醇 (分析纯) 和纯化水按比例稀释, 搅拌机混匀, 再分装至各饲养瓶。

2.2 动物分组、模型制备^[9]及药物干预

C57BL/6N 小鼠, 雌性, 适应性喂养后随机分为 6 组: 对照组、模型组、水飞蓟素 (阳性药, 63 mg·kg⁻¹) 组和 WJBF 高、中、低剂量 (5.40、2.70、1.35 g·kg⁻¹) 组, 每组 12 只。小鼠给药剂量按照人与动物给药剂量换算方法进行药物剂量换算, WJBF 说明书人服用剂量是每日 18 g, 成人体质量按照 60 kg 计算, 人与小鼠换算系数为 9^[10], 则折算小鼠的 ig 剂量为 2.70 g·kg⁻¹, 此临床等效剂量设为中剂量, 以中剂量的 2 倍 5.40 g·kg⁻¹ 为高剂量, 以中剂量的 1/2 倍 1.35 g·kg⁻¹ 为低剂量; 水飞蓟素胶囊说明书人服用剂量是每日 420 mg, 折算小鼠的 ig 剂量为 63 mg·kg⁻¹。

除对照组外, 其余各组给予酒精含量逐天增加 1% 的液体 Lieber DeCarli 饲料, 直到液体酒精含量达 5% 后, 该浓度的酒精液体饲料共喂养 11 d, 对照组给予相应的麦芽糊精替代饲料, 各给药组 ig 给药 15 d (从 1% 酒精液体饲料喂养当天开始给药)。末次给药当天下午模型组和给药组小鼠 ig 31.5% 酒精 (5 g·kg⁻¹) 1 次, 对照组小鼠 ig 糊精 (5 g·kg⁻¹), 16 h 后经呼吸麻醉、取材。

2.3 血清和肝脏中肝功能、脂质相关指标及肝脏指数测定

下腔静脉取血, 4 °C、3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min

取血清, 试剂盒法测定血清中 ALT、AST、TC、TG 水平; 取肝脏, 称质量, 计算小鼠肝脏脏器指数; 取一部分肝脏制成 10% 的组织匀浆液, 试剂盒法测定肝脏组织中 TC、TG、SOD、MDA、ADH、ALDH、8-OHdG 水平。

2.4 肝脏苏木精-伊红 (HE) 染色

取一部分肝脏固定于 4% 组织细胞固定液内, 切片后 HE 染色, 观察小鼠肝脏细胞形态学变化。

2.5 Western blotting 实验

取一部分肝组织用 RIPA 组织/细胞裂解液提取总蛋白, BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 将各个样本蛋白浓度调整一致。10% 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 凝胶分离蛋白质样品, 然后转移到 NC 膜上。脱脂牛奶室温封闭, 洗膜, 随后加入 CYP2E1、SIRT1 和 PGC-1 α 一抗, 4 °C 孵育, 洗膜后加入带荧光的二抗室温孵育, 洗膜, 运用 Odyssey FC 近红外双色激光和化学发光双功能成像系统分析图像, 检测时以 β -actin 为内参。

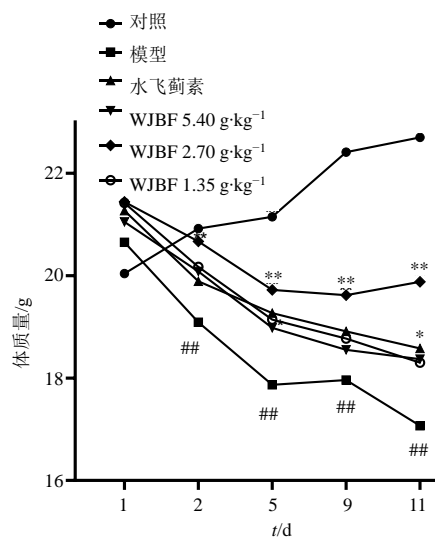
2.6 统计学方法

采用 SPSS 27.0 软件对实验数据进行统计学分析, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据先进行方差齐性检验, 方差齐选用 One-Way ANOVA 法进行各组间比较; 方差不齐选用 t' 检验进行组间比较。

3 结果

3.1 WJBF 对模型小鼠体质量的影响

如图 1 所示, 在各组小鼠饮用 5% 酒精性液体



与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

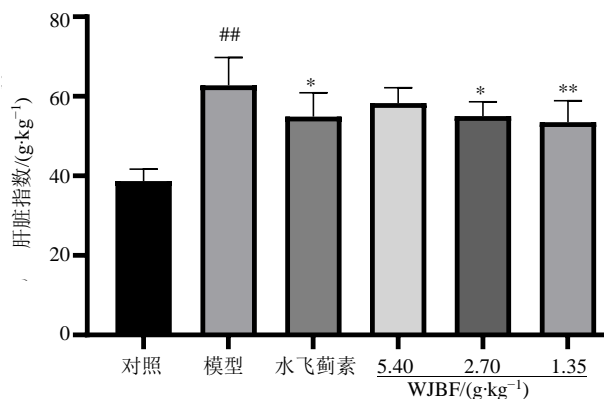
图 1 WJBF 对模型小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Fig. 1 Effects of WJBF on body weight of model mice ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

饲料第 2、5、9、11 天称体质量, 模型组小鼠体质量降低, 与对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$); WJBF 中剂量组小鼠第 2、5、9、11 天的体质量降低减缓, 较模型组均有显著性差异 ($P < 0.01$); WJBF 低剂量组小鼠第 5 天的体质量降低减缓, 较模型组有显著性差异 ($P < 0.05$)。

3.2 WJBF 对模型小鼠肝脏指数和组织病理学改变的影响

与对照组比较, 模型组小鼠肝脏指数显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, WJBF 中、低剂量组肝脏指数较模型组明显降低 ($P < 0.05, 0.01$)。见图 2。

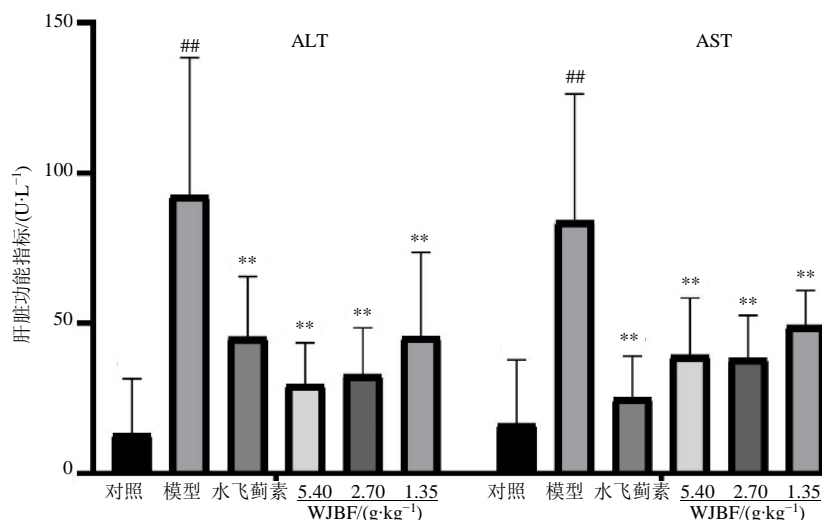


与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 2 WJBF 对模型小鼠肝脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig. 2 Effects of WJBF on organ coefficient in liver of model mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)



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 4 WJBF 对模型小鼠血清 ALT、AST 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig. 4 Effects of WJBF on serum ALT and AST of model mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

病理组织学检测显示 (图 3), 模型组小鼠肝脏组织损伤, 肝细胞排列欠规则, 肝窦狭窄, 小叶结构不清晰, 肝细胞肿胀、胞质淡染或透明样, 内含模糊的空泡。WJBF 能明显缓解模型小鼠的肝脏损伤, 主要表现在肝组织中细胞肿胀、胞质淡染、内含模糊空泡等情况缓解, 提示 WJBF 对酒精性脂肪肝小鼠肝脏损伤具有一定的保护作用。

3.3 WJBF 对模型小鼠血清肝功能相关指标的影响

与对照组比较, 模型组小鼠血清 ALT、AST 明显升高 ($P < 0.01$), 提示模型小鼠有明显的肝损伤。与模型组比较, WJBF 各剂量组小鼠血清 ALT、AST 水平明显降低 ($P < 0.01$)。提示 WJBF 对 ALD 模型小鼠肝功能有明显的改善作用。见图 4。

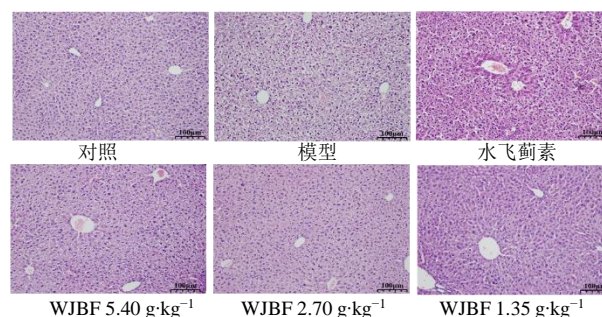


图 3 WJBF 对模型小鼠肝脏组织病理学改变的影响 ($\times 200$)

Fig. 3 Effects of WJBF on liver histopathological changes in model mice ($\times 200$)

3.4 WJBF 对血清和肝脏中脂质相关指标的影响

与对照组比较,模型组小鼠血清和肝脏组织中 TG 水平明显升高 ($P<0.01$),模型小鼠血清和肝组织中 TC 水平虽有升高,但无统计学差异,结果提示模型小鼠血脂和肝脏组织中脂质含量升高。与模型组比较,WJBF 各剂量组小鼠血清和肝脏组织中 TG 水平明显降低 ($P<0.01$)。提示 WJBF 具有明显的调脂作用。见图 5。

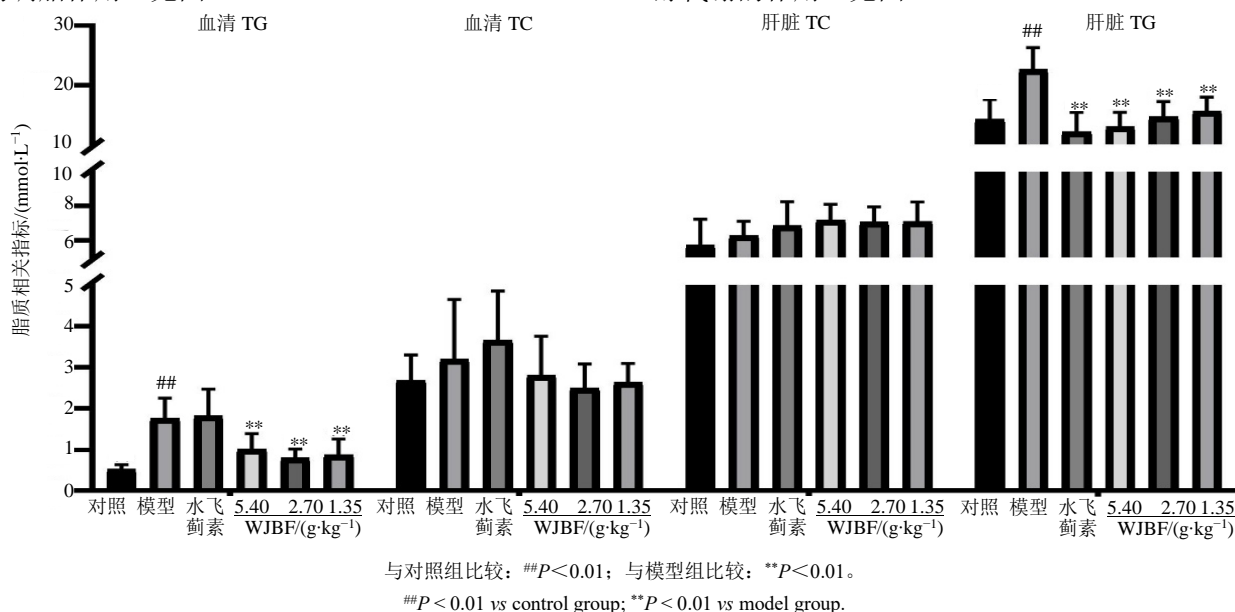


图 5 WJBF 对模型小鼠血清和肝脏组织中 TG、TC 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Fig. 5 Effects of WJBF on TG and TC contents in serum and liver tissue of model mice ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

3.6 WJBF 对模型小鼠肝脏组织中氧化应激损伤相关指标的影响

与对照组比较,模型组小鼠肝脏组织中 SOD 活性降低、MDA 和 8-OHdG 水平升高 ($P<0.01$),CYP2E1 蛋白表达升高、SIRT1 和 PGC-1 α 蛋白表达降低 ($P<0.05$ 、 0.01),由此可见模型小鼠体内存在氧化损伤。与模型组比较,WJBF 高、中剂量能明显升高模型小鼠肝脏组织中 SOD 活性 ($P<0.05$);WJBF 各剂量组小鼠肝脏组织中 MDA、8-OHdG 水平降低 ($P<0.01$);WJBF 各剂量组小鼠肝脏组织中 CYP2E1 蛋白表达降低 ($P<0.05$ 、 0.01);WJBF 高剂量组小鼠肝脏组织中 SIRT1 蛋白表达升高 ($P<0.05$);WJBF 各剂量组小鼠肝脏组织中 PGC-1 α 蛋白表达升高 ($P<0.01$)。由此可见 WJBF 具有明显的抗氧化作用,其可激活 SIRT1/PGC-1 α 信号通路和抑制 CYP2E1 蛋白的表达。见图 7、8。

3.5 WJBF 对模型小鼠肝脏组织中 ADH 和 ALDH 活性的影响

与对照组比较,模型小鼠肝脏组织中 ADH 和 ALDH 活性明显降低 ($P<0.01$)。与模型组比较,WJBF 各剂量组能明显升高模型小鼠肝脏组织中 ADH 和 ALDH 活性 ($P<0.05$ 、 0.01)。由此可见 WJBF 具有明显升高肝脏酒精代谢酶活性、促进乙醇代谢的作用。见图 6。

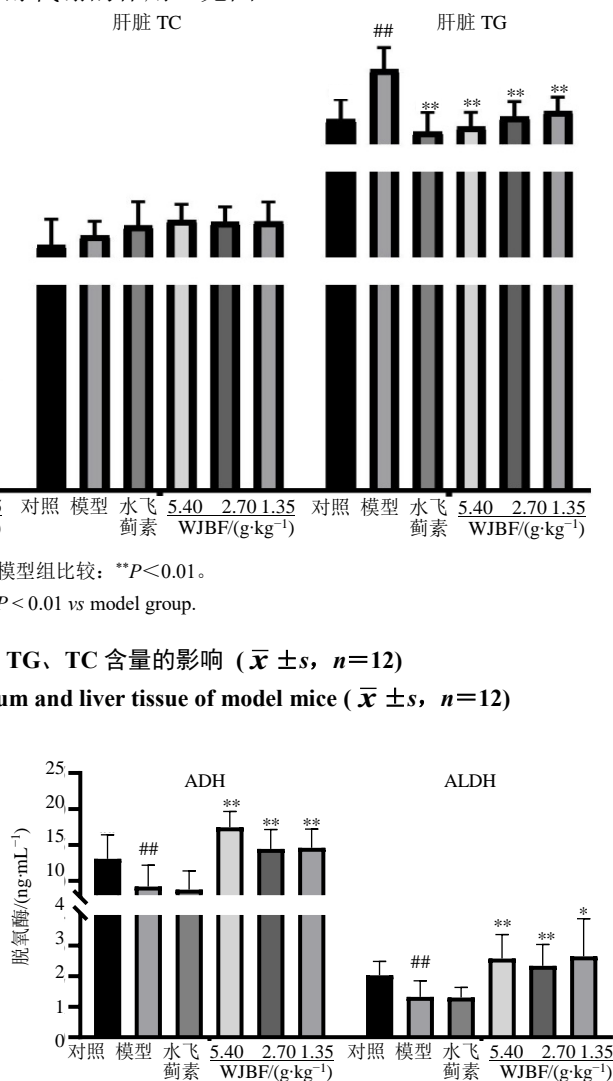


图 6 WJBF 对模型小鼠肝脏组织中 ADH、ALDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Fig. 6 Effects of WJBF on ADH and ALDH activities in liver tissue of model mice ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

4 讨论

ALD 是一种与饮酒相关的肝脏疾病,主要表现为酒精性脂肪肝、酒精性肝炎、酒精性肝硬化。目

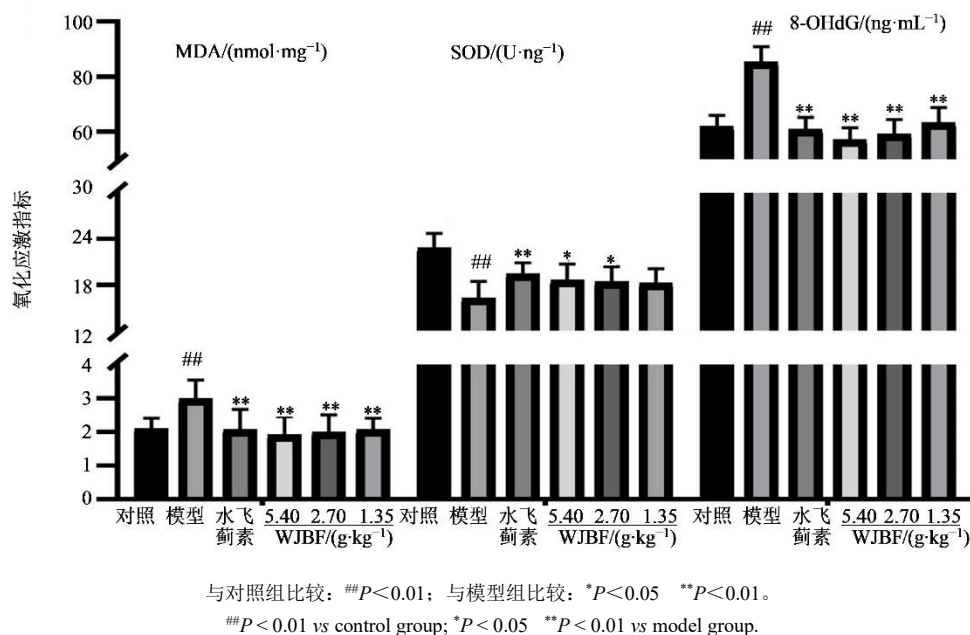


图 7 WJBF 对模型小鼠肝脏组织中 MDA 含量、SOD 活性和 8-OHdG 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

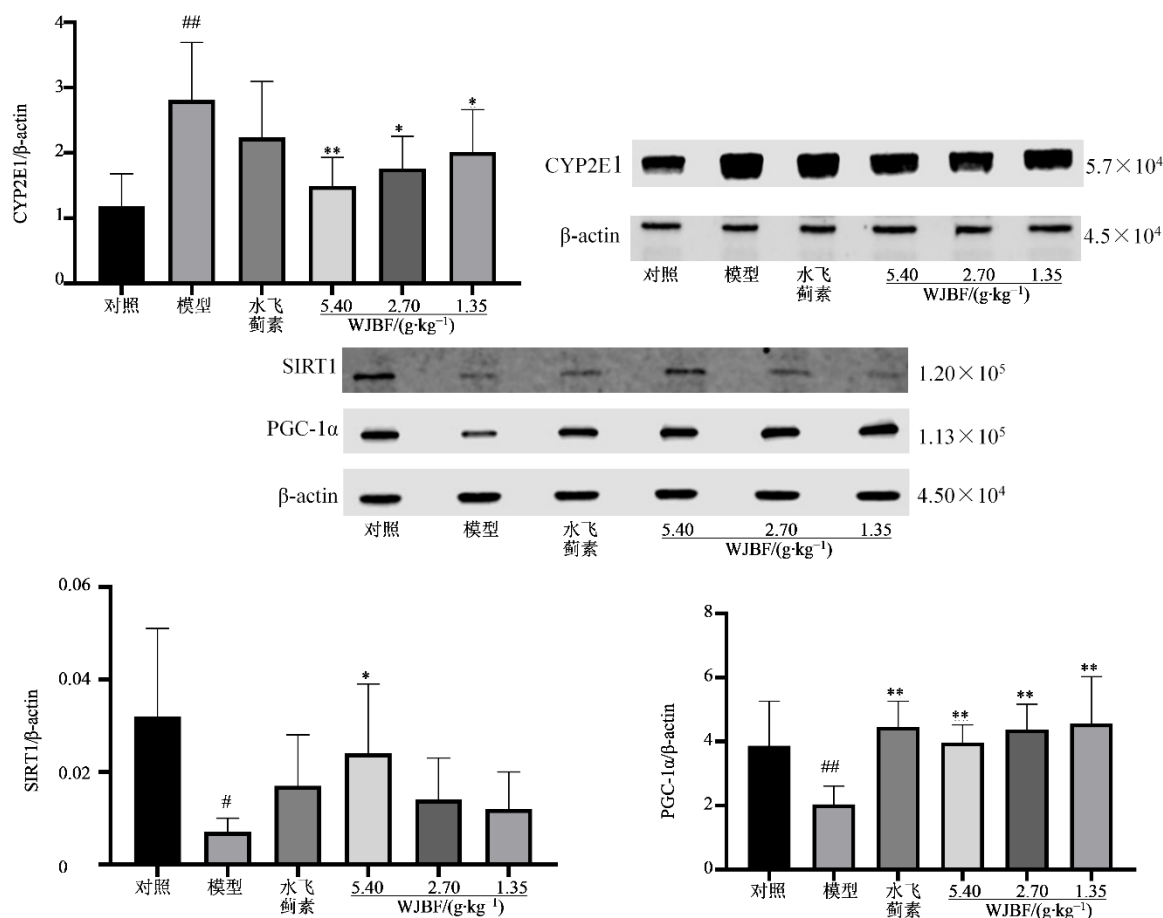
Fig. 7 Effects of WJBF on MDA content, SOD activity and level of 8-OHdG in liver tissue of model mice ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

前,临床针对 ALD 的治疗以对症用药、戒酒、保肝等为主,中医中药在治疗 ALD 上有较明显的优势,可治标治本。中医认为 ALD 归属于“酒癖”“酒疸”“积聚”“胁痛”“酒臌”等范畴。患者正气亏虚,酒毒伤肝,从而导致肝脾运化失常,诱发疾病,因此治疗应疏肝理脾、活血化瘀、清热化痰为主^[11]。WJBF 主要由乌鸡、白芍、柴胡、人参、当归、地黄以及黄芪等中药组成,可以显著改善 ALD 引起的不适症状。乌鸡补阴血、滋肝肾、清虚热,鹿角温肾阳、益精血,对于身体虚弱的 ALD 患者具有很好的滋补作用,能够增强免疫力;当归、白芍、熟地黄、川芎养血活血,可以减轻 ALD 引起的疼痛;人参、黄芪、山药益气健脾,麦冬、地黄、银柴胡、丹参凉血散瘀、清热除烦;香附疏肝理气,防补之过急致气滞阴凝之弊,诸药共奏健脾益肾,养血活血,疏肝益气,对于 ALD 具有治疗作用。更有报道指出中草药对酒精性肝损伤有低毒性、多靶点的综合作用疗效^[12],且 WJBF 定位大众消费层级,日均治疗成本低于同类化学药制剂。基于此课题组首次开展了 WJBF 治疗 ALD 的研究。

肝脏是体内乙醇代谢的主要器官,经消化道吸收的乙醇,90%以上经肝脏代谢。酒精引起的肝病主要是乙醇本身和它的氧化物通过多种途径直接或间接损害肝脏正常的功能和结构所致^[13]。Lieber-DeCarli 液体饲料诱导的小鼠酒精性脂肪肝

模型是经典的 ALD 模型之一,成模率高、稳定性好^[9],模仿了人类慢性饮酒的模式,是研究 ALD 早期脂肪变性、肝功能损伤的极佳模型,被国内外学者广泛应用^[14],而 C57BL/6 小鼠天生嗜酒,是进行酒精喂养的最好品系,且雌鼠对 ALD 的易感性更强^[15]。但该方法难以完全模拟人类 ALD 的进展,另外小鼠的酒精代谢能力较强,对酒精的耐受性强,需要额外干预(如 Kupffer 细胞去除、LPS 刺激)以加重肝损伤。所以,尽管小鼠模型在 ALD 的病理机制研究和药物筛选方面具有重要价值,但其在长期慢性酒精损伤及严重肝纤维化方面仍存在一定局限性^[12]。研究结果表明模型组小鼠血清中转氨酶活性和 TG 含量以及肝脏中 TG 含量均显著高于对照组的水平;同时肝脏病理学检查的结果显示模型组小鼠肝脏组织损伤明显;这些结果表明 Lieber-DeCarli 液体饲料成功诱导了小鼠出现酒精性肝损伤,说明模型复制成功,而 WJBF 能明显增加模型小鼠体质量,降低模型小鼠肝脏脏器指数,降低模型小鼠血清 ALT、AST、TG 水平,降低模型小鼠肝脏组织中 TG 水平,改善模型小鼠肝脏组织病理改变,对 ALD 有一定的治疗作用。

乙醇在肝脏中的主要代谢途径是 ADH 和微粒体乙醇氧化酶系统(MEOS)。进入肝脏中的乙醇浓度较低时,主要是以 ADH 为主要代谢途径,乙醇在 ADH 催化下转化为乙醛,生成乙醛后便很快在



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 8 WJBF 对模型小鼠肝脏组织中 CYP2E1、SIRT1 和 PGC-1α 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 8 Effects of WJBF on expression of CYP2E1, SIRT1 and PGC-1α protein in liver tissue of model mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

ALDH 的作用下转化为乙酸, 最终氧化成 H_2O 和 CO_2 ^[16-17]。如果饮酒过量或长期饮酒可显著降低 ALDH 的活性, 导致乙醛产生和代谢的不平衡, 从而造成血液和肝脏组织中乙醛浓度明显升高。乙醛具有很强的毒性, 对机体所有器官均有影响, 尤其是胃、肠、肝、神经系统的危害最为严重^[18]。当进入机体中乙醇浓度 $>10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, MEOS 开始参与乙醇代谢, 细胞色素 P4502E1 是 MEOS 的关键酶, 主要分布于肝细胞内质网和线粒体中, 极易被乙醇诱导^[19]。同时 CYP2E1 也可催化酒精代谢为乙醛并产生大量的活性氧, 导致脂质不能代谢, 从而产生肝损伤^[20-21]。本研究结果发现 WJBF 能明显升高模型小鼠肝脏组织中 ADH 和 ALDH 活性, 加快酒精在体内的代谢, 同时 WJBF 还能明显抑制肝脏中代谢酶 CYP2E1 蛋白表达, 减少氧自由基的产生, 减轻酒精对肝脏的损伤。

ALD 的发病机制较为复杂, 与氧化应激、脂质过氧化、细胞因子和线粒体功能障碍相关, 其中氧化应激在酒精性肝损伤的发生和发展中发挥着关键作用。酒精在体内的氧化过程中伴随着大量活性氧的生成, 从而促进脂质过氧化物的生成增多, 造成氧化还原状态的不平衡, 这种不平衡会进一步减少抗氧化剂的生成, 导致肝脏细胞结构和功能的改变, 引起肝细胞损伤。SOD 能防止自由基启动脂质过氧化过程, 保护细胞免受损伤, 其活力反映机体清除自由基的能力。MDA 为脂质过氧化的主要产物之一, 是脂质过氧化的标志, 可使抗氧化系统的功能减弱, 其量常可反映机体内脂质过氧化的程度, 间接反映出细胞的损伤程度^[22]。本研究结果显示, WJBF 能明显提高模型动物体内 SOD 活性, 降低 MDA 水平, 抑制肝细胞的脂质过氧化损伤, 保护机体细胞免受自由基的攻击, 从而保护肝细胞。

有研究表明, DNA 氧化损伤可导致基因突变、细胞癌变、退行性疾病及个体衰老。8-OHdG 是 DNA 分子中鸟嘌呤碱基的第 8 位 C 原子在过量的活性氧自由基攻击下结合-OH 而生产的一种氧化性加合物, 在体内稳定存在, 为代谢终产物, 且只能通过 DNA 氧化损伤途径形成, 是目前国际上公认的一种新型评价 DNA 氧化损伤和氧化应激状态敏感的生物标志物^[23]。本研究结果显示, WJBF 能明显降低模型动物体内 8-OHdG 水平, 对酒精造成的 DNA 氧化损伤具有明显的保护作用。

SIRT1 是一种依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 的组蛋白/非组蛋白去乙酰化酶, 在啮齿类动物和人类肝脏脂质代谢、炎症反应和酒精性脂肪肝的发展中起着重要的调控作用^[24]。酒精对肝脏 SIRT1 信号通路的破坏在酒精性脂肪肝的发展中有重要作用, 研究表明, 在酒精的影响下肝细胞中 SIRT1 表达量会显著下降, 直接破坏肝脏中脂质代谢稳态, 造成脂质过度积累和炎症反应, SIRT1 激动剂可以减轻酒精中毒模型动物肝脏脂肪变性, 起到护肝作用^[25]。SIRT1 与线粒体的研究在近几年也在增多。虽然 SIRT1 位于细胞核, 但其活动对线粒体的生物发生和更新有重要影响。SIRT1 及其底物 PGC-1 α 都可以在人类细胞系、血小板和小鼠各种器官中的线粒体中找到。这一发现暗示 SIRT1 和 PGC-1 α 可能直接影响线粒体的转录。线粒体的生物发生是由 PGC-1 家族的转录共刺激因子共同调控的, PGC-1 α 经常被认为是该过程的主要调节剂。PGC-1 α 经历了几种翻译后修饰方式, 包括乙酰化和磷酸化, 其去乙酰化依赖于 SIRT1 活性^[26-27]。WJBF 可增加模型小鼠肝脏组织中 SIRT1 的表达, 从而正调控 PGC-1 α , 然后调控后的 PGC-1 α 能有效改善线粒体功能, 减少细胞氧化应激损伤, 进而维持正常的脂酸代谢及糖异生, 从而减轻脂质在肝脏的堆积, 可达到治疗脂肪变性的目的^[28]。因此, 乙醇对 SIRT1/PGC-1 α 信号通路的破坏是酒精性脂肪肝的主要触发因素之一。本研究发现 WJBF 能明显升高模型小鼠肝脏组织中 SIRT1 和 PGC-1 α 表达水平, 激活 SIRT1/PGC-1 α 信号通路, 进而调节肝脏脂质代谢紊乱、改善氧化应激和炎症反应, 发挥对酒精性肝损伤肝脏的保护作用。

综上所述, WJBF 不仅具有较好的调血脂、保护肝脏的作用, 还可以加快酒精在体内代谢 (升高肝脏组织中 ADH、ALDH 活性), 其中抑制肝脏组

织中代谢酶 CYP2E1 蛋白表达、激活 SIRT1/PGC-1 α 信号通路可能是药物发挥治疗 ALD 效应机制的关键环节。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 姜悦航, 张越, 王妍妍, 等. 茯苓多糖提取物调控 CYP2E1 及 NF- κ B 炎症通路改善小鼠酒精性肝病 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1): 134-140.
Jiang Y H, Zhang Y, Wang Y Y, et al. Extracts of *Poria cocos* polysaccharides improves alcoholic liver disease in mice via CYP2E1 and NF- κ B inflammatory pathways [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(1): 134-140.
- [2] 王耀珩, 韩佳俊, 宋林泽, 等. 基于网络药理学探讨丹栀逍遥散治疗酒精性肝病的物质基础及作用机制 [J]. 人参研究, 2025, 37(1): 26-34.
Wang Y H, Han J J, Song L Z, et al. Based on network pharmacology, this paper discusses the material basis and mechanism of Danzhi Xiaoyao Powder in treating alcoholic liver disease [J]. Ginseng Res, 2025, 37(1): 26-34.
- [3] Chikritzh S T, Livingston M. Alcohol and the risk of injury [J]. Nutrients, 2021, 13(8): 2777.
- [4] 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.
Yang L, Bo Y Y, Yu B L, et al. General situation of prevention and treatment of alcoholic liver disease with traditional Chinese medicine and research progress of related mechanisms [J]. Chin Tradit Pat Med, 2020, 42(3): 719-726.
- [5] 孟文文, 刘慧茹, 张文光, 等. 中药防治酒精性肝病作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 868-881.
Meng W W, Liu H R, Zhang W G, et al. Research progress on mechanism of traditional Chinese medicine in preventing and treating alcoholic liver disease [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(3): 868-881.
- [6] 喻松仁, 程绍民, 饶建波, 等. 中药抗肝损伤作用临床研究进展 [J]. 中医药临床杂志, 2008, 20(6): 634-637.
Yu S R, Cheng S M, Rao J B, et al. Clinical research progress of anti-liver injury effect of traditional Chinese medicine [J]. Clin J Tradit Chin Med, 2008, 20(6): 634-637.
- [7] 王利华. 乌鸡白凤丸的药理与临床研究进展 [A] // 全国中医药科研与教学改革研讨会论文集 [C]. 贵阳: 全国中医药科研与教学改革研讨会, 2002.
Wang L H. Pharmacological and clinical research progress

- of Wuji Baifeng Pill [A] // Proceedings of the National Symposium on Traditional Chinese Medicine Research and Teaching Reform [C]. Guiyang: National Symposium on Traditional Chinese Medicine Research and Teaching Reform, 2002.
- [8] 刘国强, 王鑫国, 牛丽颖, 等. 乌鸡白凤丸对实验性高脂血症家兔脂代谢紊乱的影响 [J]. 中药药理与临床, 2003, 19(2): 5-6.
Liu G Q, Wang X G, Niu L Y, et al. Effect of Wuji Baifeng Pill on lipid metabolism disorder in experimental hyperlipidemia rabbits [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2003, 19(2): 5-6.
- [9] 曾涛, 姜璐璐, 张翠丽, 等. 两种 Lieber-DeCarli 液体饲料诱导的小鼠酒精性肝损伤模型的建立 [J]. 毒理学杂志, 2012, 26(4): 258-262.
Zeng T, Jiang L L, Zhang C L, et al. Establishment of two kinds of Lieber-DeCarli liquid diet-induced alcoholic liver diseases in mice [J]. J Toxicol, 2012, 26(4): 258-262.
- [10] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 203.
Xu S Y. Pharmacological Experimental Methodology [M]. 3rd Edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 203.
- [11] 祝海娟, 敬小华. 青海东部地区酒精性肝病中医证型分布及其与肝脏瞬时弹性成像参数相关性研究 [J]. 江苏中医药, 2022, 54(3): 35-38.
Zhu H J, Jing X H. Study in eastern Qinghai Province on the distribution of CM syndrome types of alcoholic liver disease and correlation with transient elastic imaging parameters of liver [J]. Jiangsu J Tradit Chin Med, 2022, 54(3): 35-38.
- [12] 唐国梁, 欧阳仁泽, 王毅, 等. 中草药在酒精性肝病治疗中的应用研究进展 [J]. 养殖与饲料, 2025, 24(7): 65-71.
Tang G L, Ouyang R Z, Wang Y, et al. Progress on the use of traditional Chinese medicine in treating alcoholic liver disease [J]. Anim Breed Feed, 2025, 24(7): 65-71.
- [13] 石敏娟, 姜姗姗, 袁秋贞, 等. 苦丁对酒精性脂肪肝大鼠的保护作用及机制研究 [J]. 现代中医药, 2019, 39(4): 134-136, 141.
Shi M J, Jiang S S, Yuan Q Z, et al. Protective effect and mechanism of Kuding on alcoholic fatty liver in rats [J]. Mod Tradit Chin Med, 2019, 39(4): 134-136, 141.
- [14] 黄富春, 肖国辉, 汤明云, 等. Lieber-DeCarli 液体饲料中三种方法诱导酒精性肝病小鼠模型的比较 [J]. 西南医科大学学报, 2024, 47(6): 507-511.
Huang F C, Xiao G H, Tang M Y, et al. Comparison of three methods for inducing alcoholic liver disease in mice models using Lieber-DeCarli liquid diet [J]. J Southwest Med Univ, 2024, 47(6): 507-511.
- [15] 吴慕青, 李昂, 符娟, 等. 酒精性肝病啮齿动物模型建立的研究进展 [J]. 中国热带医学, 2022, 22(10): 984-990.
Wu M Q, Li A, Fu J, et al. Advances in the establishment of rodent model of alcoholic liver disease [J]. China Trop Med, 2022, 22(10): 984-990.
- [16] 林振涛, 于红燕. 酒的代谢与中毒 [J]. 滨州医学院学报, 1999, 22(3): 311-312.
Lin Z T, Yu H Y. Metabolism and poisoning of wine [J]. J Binzhou Med Univ, 1999, 22(3): 311-312.
- [17] 翟红梅, 肖颖, 肖霄, 等. 酒在人体内的代谢及酒精中毒 [J]. 石家庄学院学报, 2010, 12(3): 27-29.
Zhai H M, Xiao Y, Xiao X, et al. Alcohol metabolism in the human body and alcoholism [J]. J Shijiazhuang Univ, 2010, 12(3): 27-29.
- [18] 胡丰涵, 沈连忠, 张昇. 乙醇对体内的代谢及对人体的损害 [A] // 中国法医学学会 • 全国第十七届法医临床学学术研讨会论文集 [C]. 哈尔滨, 2014.
Hu F H, Shen L Z, Zhang S. The Metabolism of Ethanol in the Body and Its Damage to the Human Body [A] // Proceedings of the 17th National Forensic Clinical Science Academic Symposium of the Chinese Forensic Society [C]. Harbin, 2014.
- [19] 乔新杰, 李三强, 霍续磊, 等. 细胞色素 P4502E1 在小鼠乙醇性肝损伤过程中的表达及意义 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(16): 1561-1563.
Qiao X J, Li S Q, Huo X L, et al. Expression and significance of cytochrome P4502E1 of alcoholic liver injury in mice [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2017, 33(16): 1561-1563.
- [20] 黄强, 吴春明, 陈靓. 加味四逆散对大鼠酒精性脂肪肝的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(11): 2768-2770.
Huang Q, Wu C M, Chen L. Jiawei Sini Powder on treatment of alcoholic liver disease [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2016, 34(11): 2768-2770.
- [21] 胡思琪, 邓谷霖, 李华, 等. 卡托普利与水飞蓟宾联用对大鼠酒精性脂肪肝的作用及抗氧化应激机制 [J]. 中药药理与临床, 2019, 35(4): 100-102.
Hu S Q, Deng G L, Li H, et al. The effect of captopril and silybin on the alcoholic fatty liver and the mechanism of antioxidant stress in rats [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2019, 35(4): 100-102.
- [22] 朱晓静, 汤海林, 周梁. 基于 NLRP3 炎性小体探究 N-乙酰半胱氨酸对酒精性肝病大鼠肝脏炎性反应及焦亡的作用 [J]. 免疫学杂志, 2024, 40(11): 803-811.
Zhu X J, Tang H L, Zhou L. Effects of N-acetylcysteine on

- hepatic inflammatory response and pyroptosis in rats with alcoholic liver disease based on NLRP3 inflammasome [J]. Immunol J, 2024, 40(11): 803-811.
- [23] Rahman M F, Billah M M, Kline R J, et al. Effects of elevated temperature on 8-OHdG expression in the American oyster (*Crassostrea virginica*): Induction of oxidative stress biomarkers, cellular apoptosis, DNA damage and γ H2AX signaling pathways [J]. Fish Shellfish Immunol Rep, 2023, 4: 100079.
- [24] 苏娜, 陈日玲. Sirt1 功能的研究进展 [J]. 中国医学创新, 2021, 18(25): 185-188.
- Su N, Chen R L. Research progress on Sirt1 function [J]. Med Innov China, 2021, 18(25): 185-188.
- [25] 刘岗生, 蔡佳佳. SIRT1 与酒精相关性脂肪肝及其与运动关系研究进展 [J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2022, 35(2): 331-337.
- Liu G S, Cai J J. Research progress on SIRT1 and alcoholic fatty liver disease (AFLD) and the relationship between SIRT1 and exercise [J]. J Xinyang Norm Univ Nat Sci Ed, 2022, 35(2): 331-337.
- [26] Cheng C F, Ku H C, Lin H. PGC-1 α as a pivotal factor in lipid and metabolic regulation [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(11): 3447.
- [27] 冉茂娟. 酒精性脂肪肝中 SIRT1/HMGB1 介导的线粒体自噬 [D]. 天津: 天津医科大学, 2021.
- Ran M J. Mitochondrial autophagy mediated by SIRT1/HMGB1 in alcoholic fatty liver [D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2021.
- [28] Liang D Y, Zhuo Y S, Guo Z H, et al. SIRT1/PGC-1 pathway activation triggers autophagy/mitophagy and attenuates oxidative damage in intestinal epithelial cells [J]. Biochimie, 2020, 170: 10-20.

[责任编辑 兰新新]