

- [20] 乔虎军, 王国祥, 郝鑫. 转化生长因子 β /Smad信号通路和骨关节炎研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2019, 38(2): 63-71.
- [21] ANNES J P, MUNGER J S, RIFKIN D B. Making sense of latent TGF beta activation[J]. J Cell Sci, 2003, 116(2): 217-224.
- [22] GAARENSTROOM T, HILL C S. TGF- β signaling to chromatin: how Smads regulate transcription during self-renewal and differentiation[J]. Semin Cell Dev Biol, 2014, 32: 107-118.

【责任编辑：侯丽颖】

葛根素通过抑制 I κ B α /NF- κ B p65 信号轴缓解大鼠非酒精性脂肪肝损伤

胡波¹, 徐颖², 丁辉³, 方学奇⁴, 王天宝⁵

(1. 河南省人民医院医学部, 河南郑州 450000; 2. 解放军联勤保障部队第九八八医院药剂科, 河南郑州 450007; 3. 河南省人民医院消化内科, 河南郑州 450000; 4. 解放军联勤保障部队第九八八医院医务处, 河南郑州 450007; 5. 新乡医学院第一附属医院肝脏中心, 河南卫辉 453100)

摘要:【目的】观察葛根素对大鼠非酒精性脂肪肝(NAFLD)的治疗作用及机制。【方法】将60只大鼠随机分为正常对照组, 模型对照组, 葛根素低、中、高剂量组, 多烯磷脂酰胆碱组, 每组10只。除正常对照组外, 其余组别大鼠给予高脂饲料构建NAFLD模型。造模同时, 葛根素低、中、高剂量组分别给予葛根素10、50、100 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃, 多烯磷脂酰胆碱组给予多烯磷脂酰胆碱50 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃, 正常对照组和模型对照组给予等容量生理盐水灌胃。连续12周。以苏木素-伊红(HE)染色法观察大鼠肝脏组织病理变化, 全自动生化仪检测血清谷氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)水平, 酶联免疫吸附分析(EIISA)检测外周血肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)水平, 油红O染色法观察肝脏中脂肪沉积情况, 蛋白免疫印迹法检测肝组织Caspase-3、Caspase-9、核因子(NF) κ B抑制剂 α (I κ B α)、NF- κ B p65活化水平。【结果】与正常对照组比较, 模型对照组大鼠肝脏组织可见结构破坏、过多脂肪沉积, 血清ALT、AST、TG、TC、LDL、TNF- α 、IL-6、iNOS含量均显著升高($P < 0.05$), HDL含量显著降低($P < 0.05$), 肝组织Caspase-3、Caspase-9相对表达量, p-I κ B α /I κ B α 、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65比值均显著升高($P < 0.05$); 与模型对照组比较, 葛根素中、高剂量组和多烯磷脂酰胆碱组可显著改善上述指标水平($P < 0.05$), 且葛根素高剂量组上述指标水平与多烯磷脂酰胆碱组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。【结论】葛根素可缓解NAFLD大鼠肝脏损伤, 降低血脂水平, 其机制可能与抑制I κ B α /NF- κ B p65信号轴有关。

关键词: 葛根素; 非酒精性脂肪肝; 肝损伤; I κ B α ; NF- κ B p65; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)02-0366-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.02.026

收稿日期: 2019-10-26

作者简介: 胡波(1979-), 男, 硕士研究生, 副主任医师; E-mail: hubode2019@163.com

通讯作者: 徐颖(1982-), 女, 主管药师; E-mail: 172315852@qq.com

Puerarin Alleviates Nonalcoholic Fatty Liver Disease-Induced Liver Injury in Rats by Inhibiting I κ B α /NF- κ B p65 Signaling Axis

HU Bo¹, XU Ying², DING Hui³, FANG Xue-Qi⁴, WANG Tian-Bao⁵

(1. Dept. of Medicine, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000 Henan, China; 2. Dept. of Pharmacy, the 988th Hospital of Chinese People's Liberation Army Joint Logistic Support Force, Zhengzhou 450007 Henan, China; 3. Dept. of Gastroenterology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000 Henan, China; 4. Dept. of Medical Affairs, the 988th Hospital of Chinese People's Liberation Army Joint Logistic Support Force, Zhengzhou 450007 Henan, China; 5. Liver Center, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100 Henan, China)

Abstract: Objective To observe the therapeutic effects of puerarin on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats and its mechanism. **Methods** Sixty SD rats were randomly divided into normal control group, model control group, low-, middle-, high-dose puerarin groups, and polyene phosphatidylcholine (PPC) group, 10 rats in each group. Apart from the normal control group, the rats in the other groups were induced into NAFLD model by feeding high-lipid fodder. After successful modeling, the low-, middle-, high-dose puerarin groups were given intragastric administration of 10, 50, 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ of puerarin, respectively, the PPC group was given intragastric administration of 50 mg·kg⁻¹·d⁻¹ of PPC, and the normal control group and model control group were given intragastric administration of the same volume of normal saline, the treatment lasting 12 weeks. After medication, the morphological features of liver tissue were observed under microscope by hematoxylin-eosin (HE) staining, the serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate transaminase (AST), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein (LDL), and high density lipoprotein (HDL) were determined by automatic biochemical analyzer, the serum levels of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 6 (IL-6) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the lipid deposition in liver was observed by oil red O staining, and the expression levels of Caspase-3, Caspase-9 and activation levels of inhibitor of nuclear factor (NF)- κ B α (I κ B α) and NF- κ B p65 in liver tissue were detected by Western blotting assay. **Results** Compared with the normal control group, the damaged structure and more fat deposition in liver tissue were seen in the model control group, the serum contents of ALT, AST, TG, TC, LDL, TNF- α , IL-6, iNOS were increased ($P < 0.05$), serum HDL content was decreased significantly ($P < 0.05$), and the relative expression levels of Caspase-3, Caspase-9, and ratio of p-I κ B α /I κ B α and p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 in liver tissue were increased ($P < 0.05$), while the above indicators were reversed in the middle-, high-dose puerarin groups and polyene phosphatidyl choline group, and there were no significant differences between the high-dose puerarin group and PPC group ($P > 0.05$). **Conclusion** Puerarin has effects on alleviating liver injury in NAFLD rats and lowering blood lipids, and its mechanism is related to inhibiting the I κ B α /NF- κ B p65 signalling axis.

Keywords: puerarin; nonalcoholic fatty liver; liver injury; I κ B α ; NF- κ B p65; rats

非酒精性脂肪肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 指由非酒精因素导致的肝细胞内脂肪过度沉积的慢性肝病, 被认为是代谢综合征在肝脏的表现形式^[1]。NAFLD 与胰岛素抵抗^[2]、糖尿病^[3]、肥胖^[4]、遗传易感性^[5]密切相关, 可从单纯性脂肪肝发展为非酒精性脂肪性肝炎、肝硬化, 甚至是肝癌^[6]。随着肥胖人群的增多, 伴随的代谢综合征使这部分肥胖人群患上 NAFLD 的风险大大

提高^[7]。因此, 防治 NAFLD 具有重要的意义。葛根, 为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 或甘葛藤 *Pueraria thomsonii* Benth. 的干燥根, 味甘、辛, 性平, 入脾、胃经, 可解肌退热, 透疹, 生津, 止泻。葛根素 (puerarin) 是从葛根中提取的单体, 分子式为 C₂₁H₂₀O₉, 分子量为 416, 具有舒张血管^[8]、抗氧化^[9]、抗癌^[10]、抗炎^[11]、减轻胰岛素抵抗^[12]等广泛药理活性, 可用于防治

NAFLD。有研究^[13]显示,核因子(NF) κ B抑制剂 α (I κ B α)/NF- κ B p65途径在胰岛素抵抗的发生中发挥着重要的作用。本研究旨在探讨葛根素通过I κ B α /NF- κ B p65途径对NAFLD大鼠肝功能和脂代谢作用的影响,以期为其在NAFLD的临床应用提供理论依据,现将研究结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 动物 60只SPF级SD雄性大鼠,6~8周龄,体质量(200 \pm 20)g,购自北京维通利华实验动物公司,动物质量合格证号:SCXK(京)2018-0002。将大鼠饲养于室温25℃左右、湿度50%的环境中,提供12h的正常光照条件,并提供清洁饮水。

1.2 药物 葛根素(由中国食品药品检定研究院提供,批号:110752-201816);多烯磷脂酰胆碱胶囊(成都天台山制药有限公司,批号:160220)。

1.3 试剂与仪器 苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(上海碧云天公司);改良油红O染色液(北京索莱宝公司);Caspase-3、Caspase-9、I κ B α 、磷酸化I κ B α (p-I κ B α)、NF- κ B p65、磷酸化NF- κ B p65(p-NF- κ B p65)、GAPDH等抗体(美国Abcam公司);增强型电化学发光(ECL)试剂盒(南京诺唯赞生物公司);肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)、一氧化氮合酶(iNOS)酶联免疫吸附分析(ELISA)试剂盒(南京建成生物研究所)。垂直电泳槽、转印仪、ChemiDoc MP凝胶成像仪、酶标仪(美国Bio-Rad公司);全自动生化分析仪(南京基蛋生物公司)。

1.4 分组、造模与给药 将60只大鼠随机分为正常对照组,模型对照组,葛根素低、中、高剂量组,多烯磷脂酰胆碱组,每组10只。正常对照组用标准饲料喂养,其他4组每天用高脂饲料(标准饲料的基础上加质量分数10%猪油、2%胆固醇、0.5%胆酸钠、5%蛋黄粉)喂养构建NAFLD模型,另外,多烯磷脂酰胆碱组给予多烯磷脂酰胆碱50 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹灌胃^[14],葛根素低、中、高剂量组分别给予葛根素10、50、100 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹灌胃^[15-16],正常对照组和模型对照组给予等容量9.0 g/L氯化钠溶液灌胃,均连续灌胃12周。通过NAFLD模型大鼠肝功能异常及病理变化的结果可判断造模成功与否。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 HE染色观察大鼠肝脏组织病理变化 处

死大鼠后,打开腹腔取出肝脏,将肝脏剪切成组织块并经40 g/L多聚甲醛溶液固定48 h,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋后制作石蜡切片。按照HE染色试剂盒说明书进行染色,中性树胶封固,显微镜下观察。

1.5.2 油红O染色观察大鼠肝脏脂肪堆积情况 制作5 μ m厚肝脏冰冻切片,并使用体积分数为10%福尔马林溶液固定10 min,清洗后置于体积分数60%异丙醇内浸洗30 s,使用油红O染液染色10 min。60%异丙醇分化处理5 min,清洗后经苏木素复染1 min,自来水漂洗10 min,吸干水分后使用甘油明胶封片,显微镜下观察。镜下可见肝细胞内脂肪滴呈红色,细胞核呈蓝色。

1.5.3 生化指标检测 经腹主动脉收集各组大鼠血液,以3 000 r/min离心15 min分离血清,用全自动生化分析仪测定丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸转移酶(AST)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)水平。

1.5.4 ELISA法检测大鼠外周血中TNF- α 、IL-6、iNOS水平 具体操作步骤按照ELISA试剂盒说明书进行。

1.5.5 蛋白免疫印迹(Western Blot)法检测大鼠肝组织中Caspase-3、Caspase-9的表达及I κ B α 、NF- κ B p65磷酸化情况 充分匀浆大鼠肝组织,并充分裂解,提取总蛋白。蛋白变性后,经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白,将蛋白转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜,以50 g/L脱脂牛奶室温封闭2 h,磷酸盐吐温缓冲液(PBST)洗脱后分别孵育Caspase-3、Caspase-9、I κ B α 、p-I κ B α 、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65、GAPDH等一抗,孵育二抗,加入BCL进行曝光,用ImageJ软件对蛋白质条带灰度值进行分析。

1.6 统计方法 采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析,所有实验数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较分析采用Bonferroni法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 葛根素减轻NAFLD大鼠肝脏损伤 表1结果显示:与正常对照组比较,模型对照组大鼠血清中ALT、AST含量显著增高($P < 0.05$);与模型对照

表1 各组大鼠血清中ALT、AST含量比较

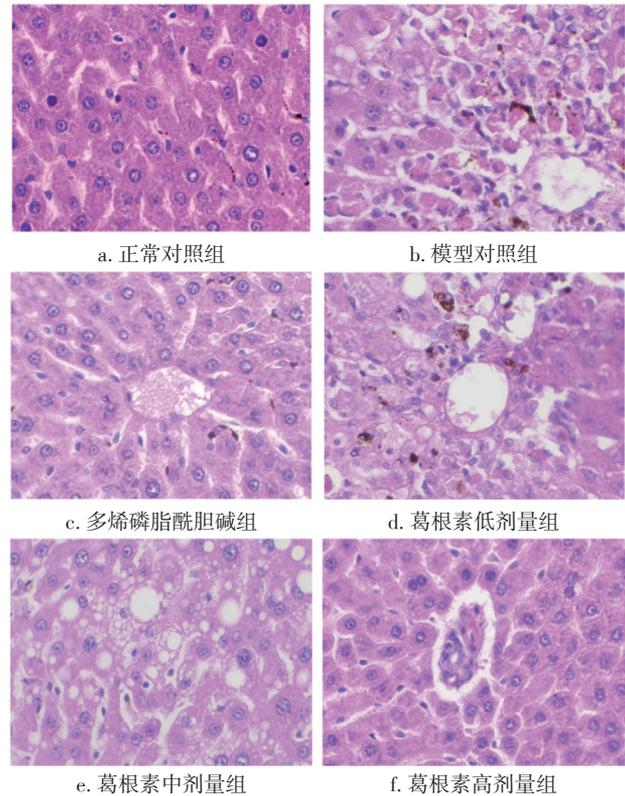
Table 1 Comparison of the serum contents of ALT and AST of rats in various groups ($\bar{x} \pm s$, U \cdot L $^{-1}$)

组别	鼠数(只)	ALT	AST
正常对照组	10	24.87 \pm 15.36	45.34 \pm 9.39
模型对照组	10	147.23 \pm 25.12 ^①	87.02 \pm 14.45 ^①
多烯磷脂酰胆碱组	10	68.64 \pm 16.93 ^②	59.58 \pm 12.14 ^②
葛根素低剂量组	10	143.02 \pm 21.67	82.19 \pm 18.54
葛根素中剂量组	10	94.19 \pm 18.54 ^{②③}	63.36 \pm 10.42 ^{②③}
葛根素高剂量组	10	59.21 \pm 15.49 ^②	47.07 \pm 9.27 ^②

① $P < 0.05$, 与正常对照组比较; ② $P < 0.05$, 与模型对照组比较; ③ $P < 0.05$, 与多烯磷脂酰胆碱组比较

组比较, 葛根素中、高剂量组和多烯磷脂酰胆碱组 ALT、AST 含量显著降低($P < 0.05$); 与多烯磷脂酰胆碱组比较, 葛根素高剂量组大鼠血清中 ALT、AST 含量无明显差异($P > 0.05$)。图1结果显示: 正常对照组大鼠肝小叶结构完整清晰, 肝细胞索排列整齐, 肝细胞体积较大, 细胞核居中, 胞质丰富, 无炎症细胞浸润; 模型对照组大鼠肝脏中存在大量脂肪空泡, 伴有肝细胞核固缩和炎症细胞浸润, 肝细胞索排列紊乱; 多烯磷脂酰胆碱组肝脏中无明显脂肪空泡和脂肪变性表现, 肝小叶结构较完整, 肝细胞索排列整齐, 无明显炎症细胞浸润; 经葛根素治疗后, 各葛根素剂量组肝脏细胞形态恢复, 且随葛根素剂量的增加大鼠肝脏病理学改变较模型对照组逐渐减轻。

2.2 葛根素缓解 NAFLD 大鼠肝脏炎症反应 表2结果显示: 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠血清中 TNF- α 、iNOS 和 IL-6 含量显著增高($P < 0.05$); 与模型对照组比较, 葛根素中、高剂量组和多烯磷脂酰胆碱组 TNF- α 、iNOS 和 IL-6 含量显著降低($P < 0.05$); 与多烯磷脂酰胆碱组比较, 葛

图1 各组大鼠肝组织病理变化比较(HE染色, $\times 200$)Figure 1 Comparison of the morphological features of liver tissue of rats in various groups (by HE staining, $\times 200$)

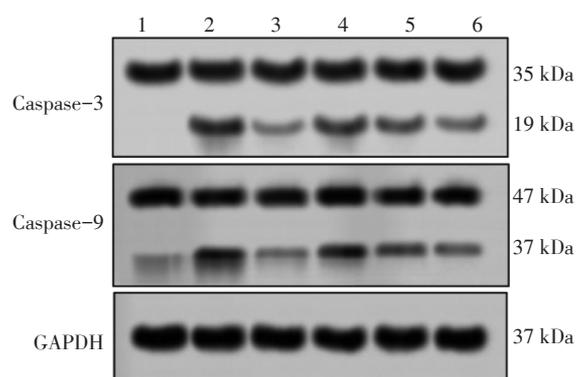
根素高剂量组大鼠血清中 TNF- α 、iNOS 和 IL-6 含量无明显差异($P > 0.05$)。

2.3 葛根素缓解 NAFLD 大鼠肝细胞凋亡 图2、表3结果显示: 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠肝组织中 Caspase-3 和 Caspase-9 表达水平显著上调($P < 0.05$); 与模型对照组比较, 葛根素中、高剂量组和多烯磷脂酰胆碱组 Caspase-3 和 Caspase-9 表达水平显著下调($P < 0.05$); 与多烯磷

表2 各组大鼠血清中炎症因子 TNF- α 、iNOS、IL-6 含量比较Table 2 Comparison of the serum contents of inflammatory factor TNF- α , iNOS, IL-6 of rats in various groups ($\bar{x} \pm s$, pg \cdot mL $^{-1}$)

组别	鼠数(只)	TNF- α	iNOS	IL-6
正常对照组	10	25.27 \pm 1.38	42.08 \pm 8.39	15.03 \pm 0.35
模型对照组	10	164.65 \pm 25.23 ^①	218.12 \pm 34.45 ^①	96.35 \pm 15.43 ^①
多烯磷脂酰胆碱组	10	57.66 \pm 6.98 ^②	83.01 \pm 15.14 ^②	41.12 \pm 7.35 ^②
葛根素低剂量组	10	158.73 \pm 26.67	207.48 \pm 28.54	89.53 \pm 14.26
葛根素中剂量组	10	95.19 \pm 14.52 ^{②③}	121.83 \pm 17.42 ^{②③}	57.19 \pm 10.28 ^{②③}
葛根素高剂量组	10	48.32 \pm 9.47 ^②	75.26 \pm 12.27 ^②	34.56 \pm 11.24 ^②

① $P < 0.05$, 与正常对照组比较; ② $P < 0.05$, 与模型对照组比较; ③ $P < 0.05$, 与多烯磷脂酰胆碱组比较



1. 正常对照组；2. 模型对照组；3. 多烯磷脂酰胆碱组；4. 葛根素低剂量组；5. 葛根素中剂量组；6. 葛根素高剂量组

图2 各组大鼠肝组织中凋亡蛋白 Caspase-3、Caspase-9 的 Western Blot 电泳条带

Figure 2 Western blotting strips of apoptosis protein Caspase-3, Caspase-9 in rat liver tissue of various groups

表3 各组大鼠肝组织中凋亡蛋白 Caspase-3、Caspase-9 相对表达量比较

Table 3 Comparison of the relative expression contents of apoptosis protein Caspase-3, Caspase-9 in rat liver tissue of various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数 (只)	Caspase-3 相对表达量	Caspase-9 相对表达量
正常对照组	10	0.00 ± 0.02	0.02 ± 0.01
模型对照组	10	0.37 ± 0.06 ^①	0.24 ± 0.04 ^①
多烯磷脂酰胆碱组	10	0.05 ± 0.01 ^②	0.04 ± 0.01 ^②
葛根素低剂量组	10	0.32 ± 0.01	0.21 ± 0.02
葛根素中剂量组	10	0.11 ± 0.05 ^{②③}	0.09 ± 0.06 ^{②③}
葛根素高剂量组	10	0.04 ± 0.02 ^②	0.03 ± 0.02 ^②

① $P < 0.05$, 与正常对照组比较；② $P < 0.05$, 与模型对照组比较；③ $P < 0.05$, 与多烯磷脂酰胆碱组比较

脂酰胆碱组比较，葛根素高剂量组大鼠组织中 Caspase-3 和 Caspase-9 表达水平无明显差异 ($P > 0.05$)。

2.4 葛根素缓解 NAFLD 大鼠肝脏脂肪沉积 图3 结果显示：正常对照组大鼠肝细胞形态清晰，胞质透明，细胞核呈现蓝色，无明显红色脂滴；模型对照组大鼠肝细胞形态不规则，胞质中沉积大量脂肪；多烯磷脂酰胆碱组肝细胞形态较为清晰，镜下仅见少红色脂滴沉积；经葛根素干预后，随葛根素剂量增加，肝细胞中脂肪沉积逐渐减少，且在葛根素高剂量组中仅可见少量脂滴。

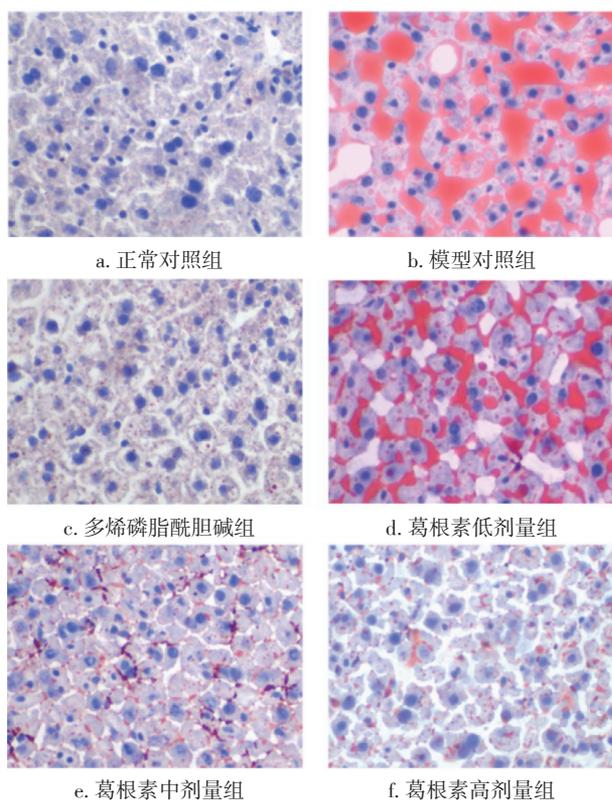


图3 各组大鼠肝脏脂肪沉积情况比较 (油红O染色, ×200)

Figure 3 Comparison of hepatic fat deposition in various groups (by oil red O staining, ×200)

2.5 葛根素降低 NAFLD 大鼠血脂水平 表4 结果显示：与正常对照组比较，模型对照组大鼠血清中 TC、TG 和 LDL 含量显著增加，而 HDL 含量显著降低 ($P < 0.05$)；与模型对照组比较，葛根素中、高剂量组和多烯磷脂酰胆碱组血清中 TC、TG 和 LDL 含量显著降低，而 HDL 含量显著增加 ($P < 0.05$)；与多烯磷脂酰胆碱组比较，葛根素高剂量组大鼠血清中 TC、TG、LDL 和 HDL 含量均无明显差异 ($P > 0.05$)。

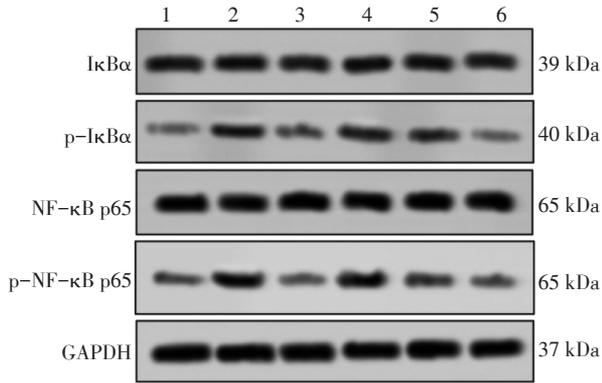
2.6 葛根素抑制 IκBα/NF-κB p65 信号通路活性

图4、表5 结果显示：与正常对照组比较，模型对照组大鼠肝组织的 p-IκBα/IκBα 比值和 p-NF-κB p65/NF-κB p65 比值显著上调 ($P < 0.05$)；与模型对照组比较，葛根素中、高剂量组和多烯磷脂酰胆碱组 p-IκBα/IκBα 比值和 p-NF-κB p65/NF-κB p65 比值显著下调 ($P < 0.05$)；与多烯磷脂酰胆碱组比较，葛根素高剂量组 p-IκBα/IκBα 比值和 p-NF-κB p65/NF-κB p65 比值表达无明显差异 ($P > 0.05$)。

表4 各组大鼠血脂水平比较
Table 4 Comparison of the rat blood lipids levels of various groups ($\bar{x} \pm s$, mmol·L⁻¹)

组别	鼠数(只)	TC	TG	HDL	LDL
正常对照组	10	1.23 ± 0.34	0.42 ± 0.09	1.34 ± 0.36	0.17 ± 0.03
模型对照组	10	4.64 ± 0.54 ^①	1.79 ± 0.25 ^①	0.42 ± 0.23 ^①	0.73 ± 0.06 ^①
多烯磷脂酰胆碱组	10	1.72 ± 0.35 ^②	0.68 ± 0.14 ^②	1.16 ± 0.23 ^②	0.28 ± 0.05 ^②
葛根素低剂量组	10	4.48 ± 0.62	1.66 ± 0.34	0.46 ± 0.16	0.69 ± 0.09
葛根素中剂量组	10	2.35 ± 0.34 ^{②③}	1.01 ± 0.12 ^{②③}	1.02 ± 0.18 ^{②③}	0.36 ± 0.05 ^{②③}
葛根素高剂量组	10	1.46 ± 0.41 ^②	0.55 ± 0.17 ^②	1.38 ± 0.44 ^②	0.21 ± 0.03 ^②

①P < 0.05, 与正常对照组比较; ②P < 0.05, 与模型对照组比较; ③P < 0.05, 与多烯磷脂酰胆碱组比较



1. 正常对照组; 2. 模型对照组; 3. 多烯磷脂酰胆碱组; 4. 葛根素低剂量组; 5. 葛根素中剂量组; 6. 葛根素高剂量组

图4 各组大鼠肝组织中p-IκBα、IκBα、p-NF-κB p65、NF-κB p65的Western Blot电泳条带

Figure 4 Western blotting strips of p-IκBα, IκBα, p-NF-κB p65, NF-κB p65 in rat liver tissue of various groups

表5 各组大鼠肝组织IκBα、NF-κB p65磷酸化水平的比较
Table 5 Comparison of the phosphorylated expression levels of IκBα, NF-κB p65 in rat liver tissue of various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	p-IκBα/IκBα 比值	p-NF-κB p65/NF-κB p65 比值
正常对照组	10	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01
模型对照组	10	0.72 ± 0.04 ^①	0.58 ± 0.07 ^①
多烯磷脂酰胆碱组	10	0.08 ± 0.03 ^②	0.04 ± 0.01 ^②
葛根素低剂量组	10	0.68 ± 0.06	0.54 ± 0.06
葛根素中剂量组	10	0.22 ± 0.05 ^{②③}	0.14 ± 0.04 ^{②③}
葛根素高剂量组	10	0.04 ± 0.02 ^②	0.05 ± 0.02 ^②

①P < 0.05, 与正常对照组比较; ②P < 0.05, 与模型对照组比较; ③P < 0.05, 与多烯磷脂酰胆碱组比较

3 讨论

在非酒精性脂肪肝病(NAFLD)发生发展过程中除了单纯的肝脏脂肪变性外, 还可见到不同程度的肝脏功能损伤、炎症反应和纤维化。ALT和AST是肝实质受损的标志物, 当肝脏受损时ALT和AST会被大量释放进入血液。本研究结果显示, 葛根素可下调NAFLD大鼠血清中ALT、AST水平, 减轻肝功能损伤, 修复肝脏组织结构病理改变。

TNF-α是参与炎症的重要介质, 可激活炎症级联反应, 促进IL-6、iNOS的大量表达, 引起机体炎症反应和组织损伤^[7]。本研究结果显示, 葛根素可减少NAFLD大鼠炎症因子TNF-α、iNOS和IL-6的含量, 减轻NAFLD大鼠炎症反应。有研究表明, 肝缺血再灌注后发生显著的细胞凋亡现象。本研究结果显示, 葛根素可下调NAFLD大鼠肝脏中凋亡蛋白Caspase-3和Caspase-9的表达, 抑制肝细胞凋亡, 修复大鼠肝脏损伤。

脂肪合成的过程主要发生在肝脏, 当脂肪的合成能力超过脂肪的消耗时便可造成脂肪过多累积在肝脏, 引发脂肪肝。NAFLD的发生与患者血脂水平直接相关, 且与肝脂肪病变程度呈正相关^[18]。本研究结果显示, 葛根素可下调NAFLD大鼠血清中TG、TC、LDL含量, 并上调HDL水平, 减少脂肪在大鼠肝脏中的沉积。

NF-κB是重要的核转录因子, 通常与IκB形成复合体存在于细胞质, 当被刺激因素激活后核转移过程增强, 参与调控炎症因子TNF-α、IL等的表达, 最终导致肝脏炎症反应的发生。本研究结果显示, 葛根素可下调NAFLD大鼠肝组织中IκBα、NF-κB p65磷酸化水平, 表明葛根素可能通过抑制IκBα/NF-κB p65信号通路活性, 进而减

轻NAFLD大鼠肝脏中的炎症反应,改善肝脏损伤。

综上所述,葛根素可能通过抑制I κ B α /NF- κ B p65信号轴活性修复NAFLD大鼠肝脏脂肪沉积所导致的肝损伤,同时还具有调节血脂的重要功效,对NAFLD起到积极的治疗作用。下一步我们将构建人正常肝细胞株L-02细胞脂肪变性模型,深入探究I κ B α /NF- κ B p65信号轴在肝细胞脂肪变性中的作用。

参考文献:

- [1] AIZAWA Y. Progress in the Management of NAFLD/NASH [J]. Rinsho Byori, 2016, 64(7): 797-805.
- [2] PASARIN M, ABRALDES J G, LIGUORI E, et al. Intrahepatic vascular changes in non-alcoholic fatty liver disease: potential role of insulin-resistance and endothelial dysfunction [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(37): 6777-6787.
- [3] YAN L, WANG S, FU Y, et al. The impact of non-alcoholic fatty liver disease on islet function in type 2 diabetes [J]. Zhonghua Nei Ke Za Zhi, 2015, 54(3): 197-200.
- [4] POLYZOS S A, KOUNTOURAS J, MANTZOROS C S. Adipose tissue, obesity and non-alcoholic fatty liver disease [J]. Minerva Endocrinol, 2017, 42(2): 92-108.
- [5] VALENTI L V C, BASELLI G A. Genetics of nonalcoholic fatty liver disease: A 2018 update [J]. Curr Pharm Des, 2018, 24(38): 4566-4573.
- [6] SINGH S, OSNA N A, KHARBANDA K K. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: a review [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(36): 6549-6570.
- [7] ANDRONESCU C I, PURCAREA M R, BABES P A. Nonalcoholic fatty liver disease: epidemiology, pathogenesis and therapeutic implications [J]. J Med Life, 2018, 11(1): 20-23.
- [8] WEI S Y. Progress on cardiovascular protections and mechanism research of puerarin [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2015, 40(12): 2278-2284.
- [9] WANG T, LIU Y, HUANG C, et al. Puerarin promotes MIN6 cell survival by reducing cellular reactive oxygen species [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(5): 7281-7286.
- [10] HU Y, LI X, LIN L, et al. Puerarin inhibits non-small cell lung cancer cell growth via the induction of apoptosis [J]. Oncol Rep, 2018, 39(4): 1731-1738.
- [11] ULLAH M Z, KHAN A U, AFRIDI R, et al. Attenuation of inflammatory pain by puerarin in animal model of inflammation through inhibition of pro-inflammatory mediators [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 61: 306-316.
- [12] CHEN X, YU J, SHI J. Management of diabetes mellitus with puerarin, a natural isoflavone from pueraria lobata [J]. Am J Chin Med, 2018, 46(8): 1771-1789.
- [13] LI H, PENG S, LI S, et al. Chronic olanzapine administration causes metabolic syndrome through inflammatory cytokines in rodent models of insulin resistance [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 1582.
- [14] 吕幼雪, 叶国良. 多烯磷脂酰胆碱治疗老年中重度脂肪肝的临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(15): 1370-1373.
- [15] WANG J F, MEI Z G, FU Y, et al. Puerarin protects rat brain against ischemia/reperfusion injury by suppressing autophagy via the AMPK-mTOR-ULK1 signaling pathway [J]. Neural Regen Res, 2018, 13(6): 989-998.
- [16] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [17] HORI H, KIM Y. Inflammation and post-traumatic stress disorder [J]. Psychiatry Clin Neurosci, 2019, 73(4): 143-153.
- [18] CHIEN-MIN K, CHENG-CHUAN L. Clinical criteria correlated with the incidence of patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. Ann Clin Lab Sci, 2017, 47(2): 191-200.

【责任编辑: 侯丽颖】