

熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及机制

肖森, 李雨馨, 刘凯会, 生庆海, 赵文, 周良付

Protective Effect and Mechanism of Ursolic Acid on Acute Alcoholic Liver Injury in Mice

XIAO Miao, LI Yuxin, LIU Kaihui, SHENG Qinghai, ZHAO Wen, and ZHOU Liangfu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024070378>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

芦荟皮提取物对急性酒精性肝损伤的保护作用与机制

Protective Effect and Mechanism of Aloe Bark Extract on Acute Alcoholic Liver Injury

食品工业科技. 2023, 44(1): 378-388 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022020064>

王浆酸对小鼠酒精性肝损伤的保护作用

Protective Effect of Royal Jelly Acid on the Alcohol Liver Injury in Mice

食品工业科技. 2020, 41(3): 291-296 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.03.048>

沙棘熊果酸对酒精性肝损伤大鼠肝FXR信号通路的影响

Effect of Ursolic Acid Extracted from *Hippophae rhamnoides* L. on FXR Signaling Pathway in Liver of Rats with Alcoholic Liver Injury

食品工业科技. 2023, 44(5): 363-370 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022040305>

刺梨复合植物饮料对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用

Protective Effect of *Rosa roxburghii* Compound Plant Beverage on Acute Alcohol-induced Liver Injury in Mice

食品工业科技. 2025, 46(3): 361-367 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024010138>

基于代谢组学探究葛根素对慢性酒精性肝损伤小鼠的保护作用

Protective Effect of Puerarin on Chronic Alcoholic Liver Injury in Mice Based on Metabolomics

食品工业科技. 2024, 45(16): 25-35 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023120219>

益生菌联合白藜芦醇对小鼠慢性酒精性肝损伤的改善作用及机制研究

Ameliorative Effect and Mechanism of Probiotics Combined with Resveratrol on Chronic Alcoholic Liver Injury in Mice

食品工业科技. 2022, 43(5): 374-380 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021070170>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

肖森, 李雨馨, 刘凯会, 等. 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及机制 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(12): 370–379. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070378

XIAO Miao, LI Yuxin, LIU Kaihui, et al. Protective Effect and Mechanism of Ursolic Acid on Acute Alcoholic Liver Injury in Mice [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(12): 370–379. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070378

· 营养与保健 ·

熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及机制

肖森¹, 李雨馨¹, 刘凯会², 生庆海¹, 赵文^{1,*}, 周良付^{1,*}

(1. 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071001;

2. 河北晨光检测技术服务有限公司, 河北邯郸 057250)

摘要: 目的: 探究熊果酸对酒精诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用及机制。方法: 40 只 SPF 级雄 ICR 小鼠被随机分为对照组、模型组, 熊果酸高剂量组 (80 mg/kg), 熊果酸中剂量组 (40 mg/kg), 熊果酸低剂量组 (20 mg/kg), 通过测定小鼠血清中谷草转氨酶 (Glutamic oxaloacetic transaminase, AST)、谷丙转氨酶 (Glutamic pyruvic transaminase, ALT) 的活力, 总胆固醇 (Total cholesterol, TC)、甘油三酯 (Triglyceride, TG) 的含量, 炎症因子白介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 及肿瘤坏死因子 (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的水平, 肝脏组织中超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px) 的活力、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 的含量, 分析肝脏病理学的变化, 核因子 κ B (Nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 炎症通路蛋白的表达以及肝脏代谢组学, 探究熊果酸对肝脏的保护作用及机制。结果: 与模型组相比, 熊果酸组血清中的 ALT 和 AST 的活力, TC 和 TG 的水平, 炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的水平显著降低 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 熊果酸组肝脏中的 GSH-Px、SOD 的活力显著升高 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 脂质过氧化物 MDA 水平极显著降低 ($P<0.01$); Western blot 结果显示, 熊果酸组炎症通路中 TLR4, MyD88, NF- κ B 和 p-NF- κ B 的蛋白表达水平显著降低 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 肝脏代谢组学结果表明, 对照组、模型组和熊果酸组之间 19 种差异代谢物发生了显著变化, 在熊果酸的作用下, 19 种差异代谢物的水平趋于正常, 这些差异代谢物主要富集于亚油酸代谢、乙酰脂质代谢、不饱和脂肪酸的生物合成、谷胱甘肽代谢和甘油磷脂代谢等代谢通路。结论: 熊果酸通过抑制氧化应激、调节脂质代谢和减轻炎症损伤对急性酒精性肝损伤小鼠发挥保护作用, 其作用机制可能与亚油酸代谢, 不饱和脂肪酸的生物合成, 谷胱甘肽代谢和甘油磷脂代谢等代谢通路有关。

关键词: 熊果酸, 急性酒精性肝损伤, 氧化应激, 炎症, 脂质代谢, 代谢组学

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)12-0370-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070378

本文网刊:



Protective Effect and Mechanism of Ursolic Acid on Acute Alcoholic Liver Injury in Mice

XIAO Miao¹, LI Yuxin¹, LIU Kaihui², SHENG Qinghai¹, ZHAO Wen^{1,*}, ZHOU Liangfu^{1,*}

(1. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China;

2. Hebei Chenguang Testing Technology Service Co., Ltd., Handan 057250, China)

Abstract: Objective: In this study, the protective effect of ursolic acid (UA) against acute alcohol-induced liver injury in

收稿日期: 2024-07-29

基金项目: 河北省自然科学基金生物农业联合基金培育项目 (C2022204246); 河北省省属高等学校基本科研业务费研究项目 (KY2022011); 河北农业大学人才引进项目 (YJ2022005)。

作者简介: 肖森 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与健康, E-mail: 1174983527@qq.com。

* 通信作者: 赵文 (1964-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品功能因子与营养评价及作用机制, E-mail: zwgyf1964@163.com。

周良付 (1989-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然活性物质与人体健康, E-mail: zhoulf202201@163.com。

mice and the mechanism involved was explored. Methods: Forty specific-pathogen-free male ICR mice were randomly assigned to control, model, high-dose UA (80 mg/kg), medium-dose UA (40 mg/kg), and low-dose UA groups (20 mg/kg). Changes in liver pathology, expression of proteins in the nuclear factor-kappa B (NF- κ B) pathway, and liver metabolomics were analyzed by determining the mouse serum activities of aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) and levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), and inflammatory factors interleukin-1 beta (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) as well as the liver tissue activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) and level of malondialdehyde (MDA). Results: Compared with the model group, the UA groups showed significantly lower ($P<0.01$ or $P<0.05$) serum ALT and AST activities and TC, TG, IL-1 β , IL-6, and TNF- α levels. Moreover, in the UA groups, the liver activities of GSH-Px and SOD were significantly increased ($P<0.01$ or $P<0.05$), and the levels of the lipid peroxidation marker MDA were significantly decreased ($P<0.01$). Western blot results showed that the protein expression levels of Toll-like receptor 4 (TLR4), myeloid differentiation primary response 88 (MyD88), NF- κ B, and p-NF- κ B in the inflammatory pathway were significantly ($P<0.01$ or $P<0.05$) reduced in the UA groups. The liver metabolomics results showed significant changes in 19 differential metabolites among the control, model, and UA groups. The levels of the 19 differential metabolites tended to normalize with the action of UA. These differential metabolites were mainly concentrated in pathways of linoleic acid metabolism, ether lipid metabolism, unsaturated fatty acid biosynthesis, glutathione metabolism, and glycerophospholipid metabolism. Conclusion: UA protects mice from acute alcohol-induced liver injury by inhibiting oxidative stress, regulating lipid metabolism, and alleviating inflammatory damage. The mechanism may be related to various metabolic pathways, including those of linoleic acid metabolism, unsaturated fatty acid biosynthesis, glutathione metabolism, and glycerophospholipid metabolism.

Key words: ursolic acid; acute alcoholic liver injury; oxidative stress; inflammation; lipid metabolism; metabolomics

肝脏是酒精代谢的主要器官, 酒精性肝损伤是引发多种酒精性肝病(Alcoholic liver disease, ALD)的主要原因^[1]。预防和早期治疗酒精性肝脏损伤的发生和发展, 对降低酒精性肝病发病率具有重要的意义。食源性天然活性物质具有广泛的生物学效应, 因此, 其对酒精性肝损伤的保护作用也受到了越来越多的关注^[2-4]。

熊果酸(Ursolic acid, UA), 又名乌索酸, 分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$, 是一种五环三萜类化合物。熊果酸以游离酸的形式或者作为三萜皂苷的苷元存在于迷迭香、枇杷、苹果、蓝莓和山楂等天然植物中^[5]。酒精诱导的肝损伤主要涉及肝脏氧化应激, 脂质代谢, 炎性细胞浸润以及大量炎症因子的产生等过程^[6]。近期研究发现, 熊果酸通过提高肝细胞的抗氧化能力, 减轻酒精摄入引发的炎症反应, 改善酒精引起的慢性肝损伤^[7-8]。沙棘熊果酸可通过激活肝脏法尼醇 X 受体(Farnesoid X receptor, FXR)信号通路, 改善大鼠胆汁酸稳态和肝脏脂质代谢, 最终改善慢性酒精摄入诱导的肝脏损伤^[9]。Ma 等^[10]研究表明, 熊果酸通过抑制半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)减少肝细胞凋亡, 进而减轻改善酒精引起的慢性肝损伤; 包艳红等^[11]研究也证实, 沙棘熊果酸可以通过线粒体-细胞色素 c 途径抑制酒精诱导的肝细胞凋亡。然而, 目前的研究集中于熊果酸对酒精引起的慢性肝损伤的作用, 对熊果酸预防给药改善急性酒精性肝损伤作用的研究较少。代谢组学技术通过分析生物体受到外界刺激或扰动后, 血液、尿液和肝脏等生物样本中内源性代谢物的变化, 揭示药物发挥作用的机制, 该技术在疾病机制研究和药物作用评价等方面广泛应用^[4,12]。但目前为止, 未见从代谢组学的角度探讨熊

果酸改善急性酒精性肝损伤作用机制的报道。

因此, 为进一步探索熊果酸对酒精引起的急性肝损伤的保护作用, 本研究利用 ICR 小鼠通过单次大剂量灌胃酒精建立急性酒精性肝损伤的小鼠模型, 通过检测生理生化指标、氧化应激水平、炎症因子水平、炎症通路蛋白表达, 同时利用代谢组学技术分析肝脏差异代谢物和代谢通路的变化, 探究熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用机制。为利用富含熊果酸的植源性食物开发具有保肝功能的食品和膳食补充剂提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

雄性 ICR 小鼠(SPF 级) 4~5 周龄, 体重 20~22 g, 购于斯贝福(北京)生物技术有限公司, 许可证号 SCXK(京)2019-0010, 所有实验程序均获得河北农业大学伦理委员会的批准(批准号: 2022139); 熊果酸(Ursolic acid) 上海麦克林生化科技有限公司, 分子式 $C_{30}H_{48}O_3$, 分子量 456.7, 纯度 98%; 谷草转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)检测试剂盒

南京建成生物工程研究所; 白介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor- α , TNF- α)检测试剂盒上海酶联生物技术公司; Western 及 IP 细胞裂解液、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 碧云天生物技术有限公司; BCA 试剂盒

北京索莱宝科技有限公司; ECL 化学发光液 北京雷根生物技术有限公司; Easy PAGE®彩色快速凝胶配制试剂盒、彩色预染蛋白质分子量标准Ⅲ、Western 封闭液(BSA, 牛血清白蛋白)、通用型抗体稀释液和 TBST 缓冲液(干粉) 北京赛文创新生物科技有限公司; Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR-4) 抗体、核因子 κ B(Nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 抗体、 β -actin 抗体、辣根过氧化物酶(Horseradish peroxidase, HRP) 标记的二抗 中国 Proteintech 公司; 髓样分化因子 88(Myeloid differentiation factor 88, MyD88) 抗体 美国 Abcam 公司。

SPX-250B 型生化培养箱 北京鑫骉腾达仪器设备有限公司; Synergy2 多功能酶标仪 美国伯腾(BioTek)仪器有限公司; EN61326 高速离心机 德国艾本德(Eppendorf)公司; QL-811 旋涡混合器 海门其林贝尔仪器制造有限公司; JY600E 电泳仪 北京君意东方电泳设备有限公司; SCIENTZ-48 高通量组织研磨器 宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组及处理 将 40 只雄性 ICR 小鼠随机分成 5 组, 分别命名为对照组、模型组、阳性熊果酸低剂量组(20 mg/kg)、熊果酸中剂量组(40 mg/kg)、熊果酸高剂量组(80 mg/kg), 每组 8 只。在温度(23±2)℃、相对湿度(55±5)%、12 h 光照循环的环境下饲养。

小鼠适应性喂养一周后, 开始灌胃处理, 熊果酸组分别灌胃不同剂量的熊果酸(0.5% 羟甲基纤维素钠制成的悬混液), 对照组和模型组分别灌胃等体积的 0.5% 羟甲基纤维素钠水溶液, 连续灌胃 14 d。每隔 1 d 称重一次。末次灌胃处理后, 间隔 1 h, 除了对照组外, 其他组均按 12 mL/kg 的剂量灌胃 50% 乙醇溶液, 建立急性酒精性肝损伤模型^[13]。禁食不禁水 12 h 后, 眼眶取血, 4 ℃、3000×g 离心 10 min 后取血清, 存于-80 ℃, 用于后续生化指标测定; 小鼠颈椎脱臼处死后, 迅速取出肝脏, 将切下的肝组织分为两份, 分别用液氮快速冷冻和 4% 多聚甲醛固定, 用于后续指标测定。

1.2.2 血清生化指标检测 根据试剂盒的操作步骤和要求, 测定小鼠血清中转氨酶指标 ALT 和 AST, 血脂指标 TG 和 TC。

1.2.3 肝脏氧化应激指标检测 称取 0.1 g 肝脏样品, 按 1:9 体积比加入预冷的生理盐水, 并在冰水浴中将其完全研磨, 匀浆结束后离心吸取上清液(4 ℃, 3000 r/min, 15 min)。根据试剂盒的操作步骤和要求, 测定小鼠肝脏中 SOD 酶和 GSH-Px 酶的活力值, 测定脂质过氧化产物 MDA 的含量。

1.2.4 苏木精-伊红(Hematoxylin-eosin, HE)染色 肝脏标本用 4% 多聚甲醛固定 24 h 后, 梯度乙醇脱水, 石蜡包埋, 组织切片, HE 染色, 在光学显微镜下

观察肝脏组织的病理学变化。

1.2.5 血清和肝脏炎症因子检测 根据试剂盒的操作步骤和要求, 测定小鼠血清和肝脏中促炎因子 IL-6, IL-1 β , TNF- α 的水平。

1.2.6 蛋白表达水平检测 从-80 ℃ 取出小鼠肝脏组织, 按照每 20 mg 组织加入 200 μ L 的比例将小鼠肝脏组织和裂解液混合, 转移到组织研磨仪中, 将组织匀浆, 匀浆结束后离心吸取上清液(4 ℃, 12000 r/min, 5 min)。根据 BCA 试剂盒的操作步骤和要求, 测定蛋白浓度。按照 4:1 的比例往蛋白样品中加入蛋白上样缓冲液, 沸水浴加热 3~5 min 使蛋白变性。根据 Easy PAGE®彩色快速凝胶配制试剂盒的操作步骤和要求配置分离胶和浓缩胶。每个泳道的蛋白上样量为 20 μ g, 设置电压 150 V, 时间 110 min, 电泳结束后, 取出完整的胶, 进行湿法转膜。转膜结束后, 使用封闭液将 PVDF 膜在摇床上封闭 1 h。封闭结束后, 分别加入按比例稀释后的 TLR4(1:1000), MyD88(1:5000), NF- κ B(1:20000), p-NF- κ B(1:5000) 和 β -actin(1:10000) 一抗孵育过夜, 孵育完成后, 使用 TBST 溶液洗涤。使用按比例稀释的二抗溶液(1:10000)室温摇床孵育 1 h, 孵育完成后, 使用 TBST 溶液洗涤。使用 ECL 化学发光液进行显色, 最后使用 ImageJ 软件分析蛋白灰度值。

1.2.7 非靶向代谢组学分析 取对照组、模型组和熊果酸组小鼠的肝脏组织 0.5 g, 使用预冷的去离子水去除组织中的血液残留, 液氮冷冻处理 0.5 h, 转至-80 ℃ 冰箱冻存, 干冰冻存送样至上海美吉生物医药科技有限公司进行分析。采用赛默飞公司的超高效液相色谱串联傅里叶变换质谱 UHPLC-Q Exactive HF-X 系统上对样本进行 LC-MS/MS 分析。色谱条件为: 色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm×2.1 mm i.d., 1.8 μ m; Waters, Milford, USA); 流动相 A 为 95% 水+5% 乙腈(含 0.1% 甲酸), 流动相 B 为 47.5% 乙腈+47.5% 异丙醇+5% 水(含 0.1% 甲酸), 进样体积 3 μ L, 柱温 40 ℃。使用代谢组学软件 Progenesis QI 提取、比对和鉴定数据。

1.3 数据处理

使用“平均值±标准差”记录数值, SPSS Statistics 25.0 进行数据处理, GraphPad Prism8.0 进行绘图。每组实验设计为 3 个平行, 采用多重比较的方法进行显著性分析, 以 $P<0.05$ 为显著差异, $P<0.01$ 为极显著差异。

2 结果与分析

2.1 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠血清中 ALT, AST, TC, TG 的影响

ALT 和 AST 是临幊上评价肝功能的重要指标, 其水平的高低反映了肝细胞损伤的程度^[12]。如

图 1A 所示, 模型组血清中 ALT 和 AST 的活力水平显著高于对照组($P<0.05$ 或 $P<0.001$); 与模型组相比, 高、中、低熊果酸组血清中 ALT 和 AST 的活力水平则显著降低($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.001$)。结果表明, 不同剂量的熊果酸预防给药可以有效抑制过量乙醇摄入引起的肝细胞急性损伤, 对小鼠肝细胞具有保护作用。乙醇的摄入也会导致肝脏脂质代谢紊乱^[14]。如图 1B 所示, 模型组血清中 TC 和 TG 的含量显著高于对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与模型组相比, 高、中、低剂量熊果酸组血清中 TC 和 TG 的含量则显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.001$)。结果表明, 不同剂量的熊果酸预防给药可以有效改善过量乙醇摄入引起的肝细胞脂质代谢紊乱。

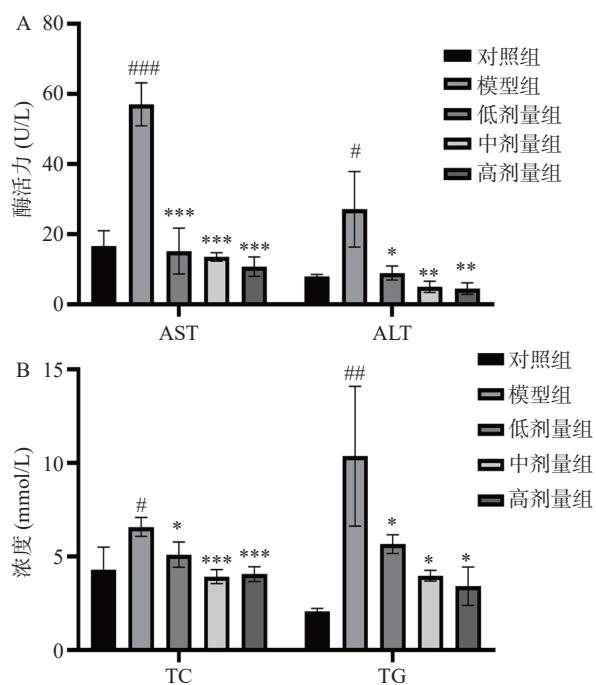


图 1 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠血清中 ALT、AST、TC、TG 的影响

Fig.1 Effects of ursolic acid on ALT, AST, TC, and TG in serum of mice with acute alcoholic liver injury

注: 与对照组相比, $\#P<0.05$, $\#\#P<0.01$, $\#\#\#P<0.001$; 与模型组相比, $*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$, 图 2、图 4~图 5 同。

2.2 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠肝脏氧化应激的影响

乙醇在肝脏中乙醇脱氢酶和细胞色素氧化酶

P450-2E1 的作用下形成乙醛, 在此代谢过程中会形成大量的活性氧自由基(Reactive oxygen species, ROS)^[15]。如图 2 所示, 模型组肝脏中 SOD 和 GSH-Px 的活力水平极显著低于对照组($P<0.01$), 脂质过氧化物 MDA 的含量极显著高于对照组($P<0.01$); 与模型组相比, 熊果酸组肝脏中 SOD 和 GSH-Px 的活力水平则显著升高($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.001$), MDA 的含量极显著低于对照组($P<0.01$ 或 $P<0.001$)。结果表明, 乙醇过量摄入会破坏肝脏的抗氧化酶系统, 使肝脏的氧化应激水平升高, 进而对细胞膜系统造成破坏, 而熊果酸预防给药可以有效减轻乙醇对 SOD 和 GSH-Px 活力的抑制, 降低肝脏的氧化应激水平, 减少脂质过氧化物的生成, 减轻乙醇对肝细胞造成的损伤。

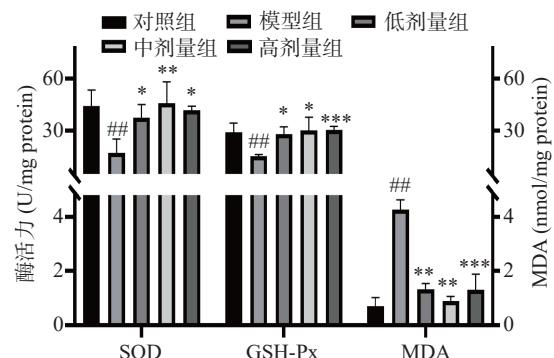


图 2 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠肝脏氧化应激的影响

Fig.2 Effects of ursolic acid on liver oxidative stress in mice with acute alcoholic liver injury

2.3 急性酒精性肝损伤小鼠肝脏组织的病理学分析

巨噬细胞在乙醇诱导的肝脏炎症的发展中起着关键作用, 乙醇的摄入会激活肝脏的先天和适应性免疫反应, 使肝巨噬细胞, 又称库普弗细胞, 聚集于肝脏诱发炎症反应^[16]。如图 3 所示, 对照组小鼠的肝细胞形态结构完整、轮廓清晰, 肝索排列呈放射状, 肝细胞核圆润、清晰; 与对照组相比, 模型组的肝细胞结构不完整, 肝细胞排列紊乱, 细胞间的界限模糊不清, 细胞内出现空泡变性, 中央静脉周围出现呈现明显的炎性细胞浸润; 相比于模型组, 低剂量熊果酸组, 中央静脉周围未见炎性细胞浸润, 细胞内的空泡变性呈现不同程度地减少; 中、高剂量熊果酸组, 肝细胞

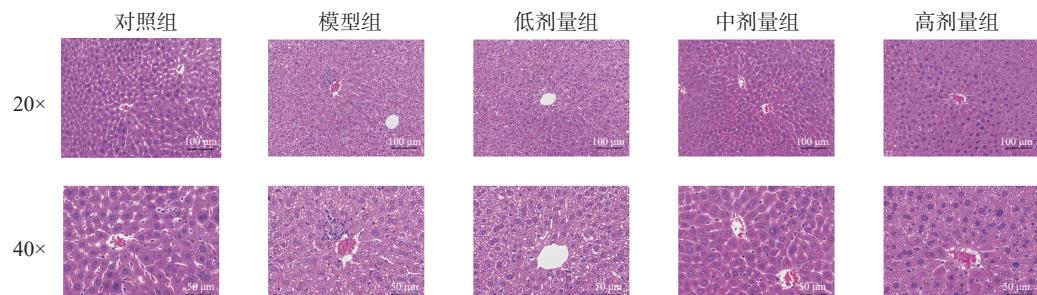


图 3 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠肝组织病理学形态的影响

Fig.3 Effects of ursolic acid on the pathological morphology of liver tissue in mice with acute alcoholic liver injury

基本排列整齐,肝索排列清晰,细胞内空泡变性显著减少,中央静脉周围未见炎症细胞浸润。结果表明,乙醇的过量摄入会引发肝脏的炎症反应,加剧乙醇对肝细胞造成的损伤,而熊果酸预防给药可以减轻乙醇诱导的炎症反应和肝细胞损伤。

2.4 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠血清和肝脏炎症因子的影响

乙醇在代谢过程会激活肝巨噬细胞,释放IL-6、IL-1 β 和TNF- α 等促炎因子,加剧炎症反应,加重酒精性肝损伤^[16]。如图4所示,与对照组相比,模型组小鼠血清和肝脏中的IL-1 β 、IL-6和TNF- α 等促炎因子的水平极显著提高($P<0.01$),与模型组相比,不同剂量的熊果酸预防给药均能极显著降低小鼠血清和肝脏中的IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平($P<0.01$)。结果表明,乙醇的过量摄入会引发肝脏的炎症反应,使血清和肝脏中促炎因子的水平升高,熊果酸可以抑制促炎因子的产生,减轻乙醇诱发的炎症反应,发挥保肝作用。

2.5 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠肝脏NF- κ B信号通路的影响

乙醇的摄入会刺激肝巨噬细胞的免疫反应,诱导炎症因子如IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的释放,引起炎性细胞趋化与聚集,而释放的炎症因子又能通过细胞表面受体进一步激活NF- κ B,在此过程中,NF- κ B被不

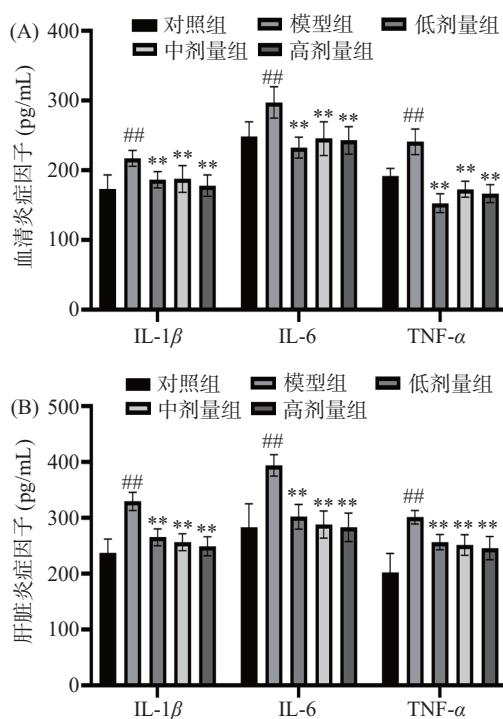


图4 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠血清和肝脏中IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的影响

Fig.4 Effects of ursolic acid on IL-1 β , IL-6, and TNF- α in serum and liver of mice with acute alcoholic liver injury

断活化,使炎症反应级联逐步放大^[17]。如图5所示,与对照组相比,模型组小鼠肝脏组织中TLR4,

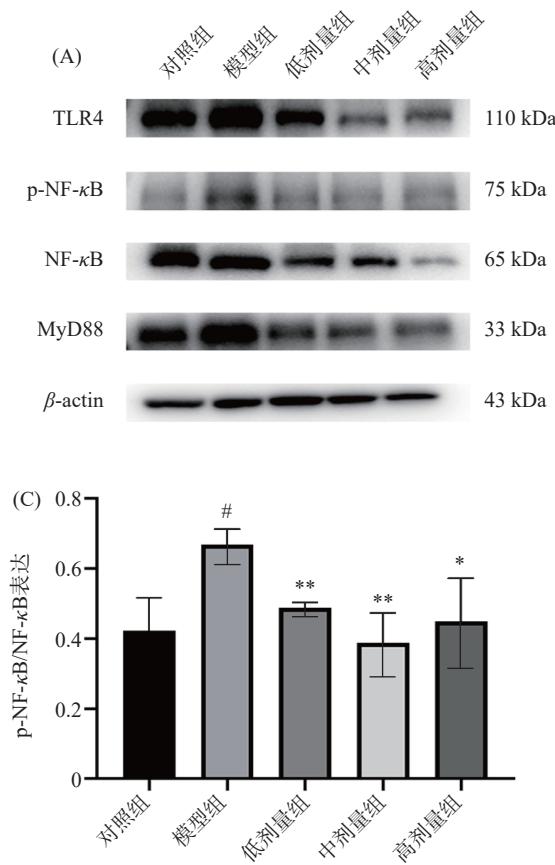


图5 熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠肝脏中NF- κ B信号通路蛋白表达的影响

Fig.5 Effects of ursolic acid on the expression of NF- κ B signaling pathway in liver of mice with acute alcoholic liver injury

MyD88, NF- κ B 和 p-NF- κ B 蛋白表达量显著上调 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$); 与模型组相比, 熊果酸组小鼠肝脏组织中 TLR4, MyD88, NF- κ B 和 p-NF- κ B 蛋白表达量显著降低 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 或 $P<0.001$)。结果表明, 熊果酸通过抑制 NF- κ B 信号通路的激活, 减少 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 等促炎因子的分泌, 减轻肝脏炎症反应, 抑制乙醇过量摄入引起的炎症损伤。

2.6 急性酒精性肝损伤小鼠肝脏代谢组学分析

2.6.1 肝脏组织代谢轮廓分析 代谢组学分析有助于更好地了解体内物质的病理过程和代谢途径, 并发现一些相关的生物标志物^[18]。三个剂量的熊果酸均可以减轻乙醇引起的肝损伤, 采用 LC-MS 对对照组、模型组和低剂量熊果酸组的肝组织进行代谢组学分析。首先对肝脏代谢物进行了主成分分析 (Principal components analysis, PCA) 如图 6A 和图 6B 所示, 质量控制(Quality control, QC)样本在阴阳离子模型下紧密聚集, 没有分散现象, 可以保证测量数据的稳定可靠; 对照组、模型组和熊果酸组发生明显分离, 说明各组的代谢轮廓发生了变化, 乙醇的过量摄入使小鼠肝脏的代谢物出现差异。为了进一步筛选出小鼠肝组织中内源性差异代谢物, 采用正交最小二乘判别分析(OPLS-DA)方法, 在阴离子和阳离子两种模式下对小鼠肝组织的数据进行了进一步分析, 结果如图 6C~图 6F 所示, OPLS-DA 得分图中, 对照组和模型组之间的明显分离表明, 乙醇过量

摄入破坏了小鼠肝脏的代谢模式, 并导致肝脏代谢产物发生了显著变化; 熊果酸组和模型组之间的明显分离, 表明肝脏代谢物在模型组与熊果酸组之间存在着明显差异, 熊果酸预防给药可以改变乙醇摄入引起的代谢产物的变化。为检验 OPLS-DA 模型是否存在过拟合现象, 通过置换检验对 OPLS-DA 模型进行统计验证, 结果如图 6G~图 6J 所示, R^2Y 接近 1, Q^2 大于 0.5, 表明此模型无过度拟合现象具有很好的可预测性和拟合度, 所建立的模型是有效的, 可以用于筛选模型中的差异代谢产物。

2.6.2 肝脏代谢差异物筛选 基于 PCA 和 OPLS-DA 评分, 对检测到的所有代谢物进行差异分析, 绘制代谢物火山图, 结果图 7A 和图 7B 所示, 模型组与对照组之间共有 140 个差异代谢物, 与对照组相比, 模型组中 76 个代谢物上调, 64 个代谢物下调; 熊果酸组与模型组之间共有 144 个差异代谢物, 与模型组相比, 熊果酸组中 90 个代谢物上调, 54 个代谢物下调。依据 OPLS-DA 模型, 以 VIP>1 且 $P<0.05$ 为标准, 对照组、模型组和熊果酸组进行差异代谢物的筛选, 共筛选出 19 种差异代谢物, 结果如图 7C 和表 1 所示, 与对照组相比, 模型组中的 8-Aza-spiro[4.5]decane-7,9-dione(8-氮杂螺环 [4.5] 烯烷-7,9-二酮), Cabergoline(卡角麦林), 3-Ketosphingosine (3-酮鞘氨醇) 等 10 个代谢产物显著上调, PC (LTE4/14:0), Terpestacin, Salbutamol(沙丁胺醇) 等

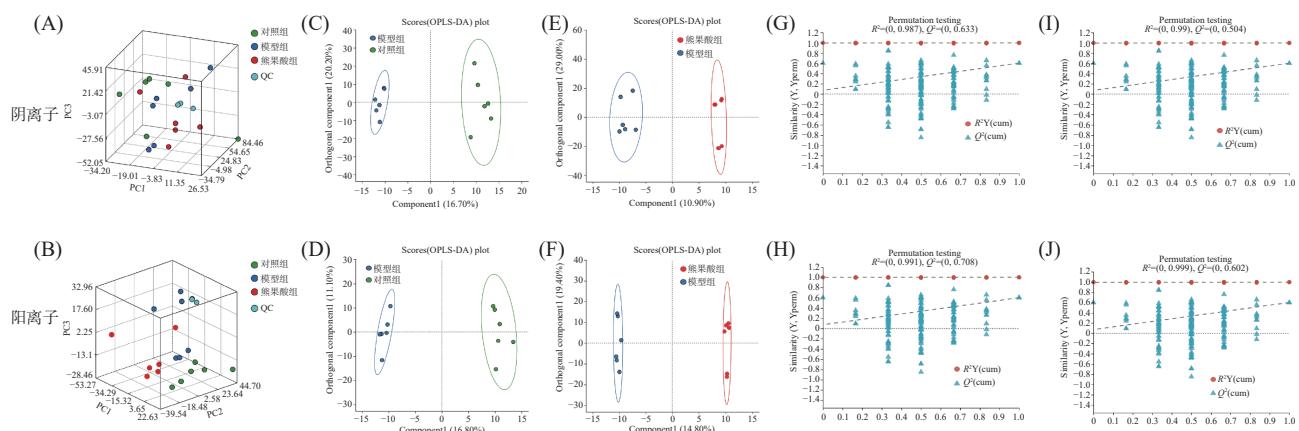
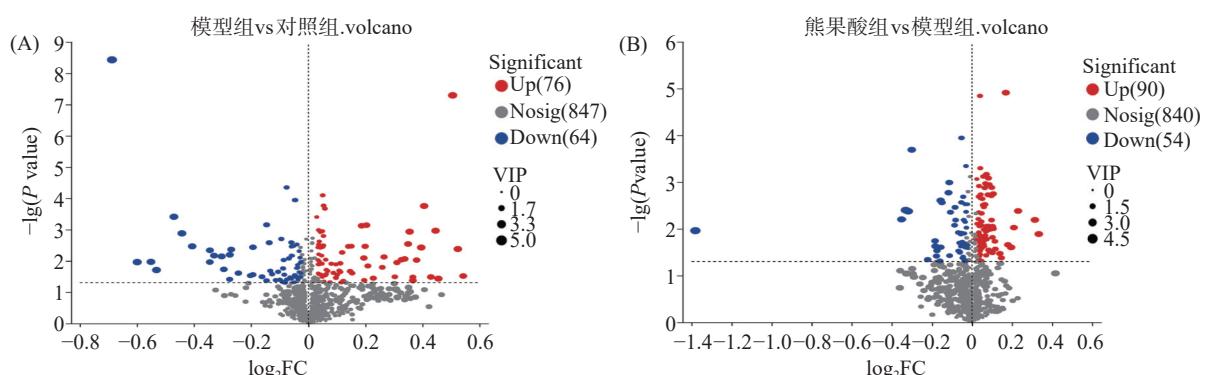


图 6 小鼠肝脏组织代谢组数据统计分析

Fig.6 Statistical analysis of metabolome data of mouse liver tissue



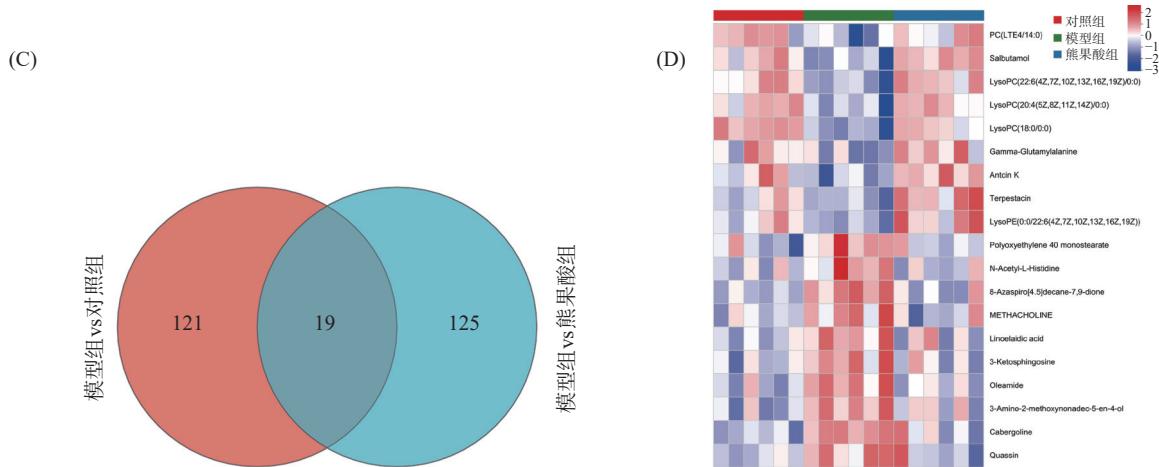


图7 小鼠肝脏组织差异代谢物分析
Fig.7 Differential metabolite analysis of mouse liver tissue

表1 对照组、模型组和熊果酸组肝脏差异代谢物分析

Table 1 Analysis of differential metabolites in the liver of the control group (NC), model group (MC), and ursolic acid group (UAL)

组别	代谢物	模型组/对照组			熊果酸组/模型组		
		VIP	P	趋势	VIP	P	趋势
1	8-Azapiro[4.5]decane-7,9-dione(8-氮杂螺环[4.5]癸烷-7,9-二酮)	3.51	0.0002	Up	3.19	0.0063	Down
2	PC(LTE4/14:0)	2.20	0.0321	Down	2.16	0.0419	Up
3	Cabergoline(卡角麦林)	1.49	0.0001	Up	1.13	0.0251	Down
4	Terpestacin	1.00	0.0332	Down	1.72	0.0008	Up
5	3-Ketosphingosine(3-酮鞘氨醇)	1.17	0.0094	Up	1.12	0.0231	Down
6	Oleamide(油酸酰胺)	1.30	0.0030	Up	1.30	0.0030	Down
7	3-Amino-2-methoxynonadec-5-en-4-ol(3-氨基-2-甲氧基十一碳-5-烯-4-醇)	1.38	0.0035	Up	1.12	0.0208	Down
8	Salbutamol(沙丁胺醇)	1.21	0.0115	Down	1.49	0.0012	Up
9	LysoPC(20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/0:0)	1.35	0.0165	Down	1.39	0.0135	Up
10	LysoPC(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/0:0)	1.69	0.0026	Down	1.83	0.0013	Up
11	Linoelaidic acid(亚麻酸)	1.30	0.0036	Up	1.13	0.0393	Down
12	Polyoxyethylene 40 monostearate(聚氧乙烯(40)硬脂酸酯)	1.11	0.0250	Up	1.02	0.0237	Down
13	Methacholine(乙酰甲胆碱)	1.44	0.0123	Up	1.34	0.0417	Down
14	LysoPE(0:0/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	1.16	0.0108	Down	1.58	0.0022	Up
15	N-Acetyl-L-Histidine(N-乙酰-L-组氨酸)	1.37	0.0264	Up	1.45	0.0322	Down
16	LysoPC(18:0/0:0)	1.70	0.0001	Down	1.41	0.0020	Up
17	Quassin(苦木素)	1.24	0.0024	Up	1.10	0.0498	Down
18	Gamma-Glutamylalanine(γ-谷氨酰丙氨酸)	1.10	0.0482	Down	1.67	0.0107	Up
19	Antcin K(樟芝酸K)	1.47	0.0395	Down	2.34	0.0018	Up

9个代谢产物显著下调。对差异代谢物的聚类层次分析绘制了聚类热图,如图7D所示,聚类热图表明了对照组、模型组和熊果酸组中肝脏代谢物相对含量的变化趋势,其中红色表示物质相对含量上调,蓝色表示物质相对含量下调,熊果酸组更接近于对照组。结果表明,熊果酸预防给药可以显著减轻乙醇过量摄入引起的肝脏代谢产物的变化。

2.6.3 差异代谢物的代谢通路富集分析 将对照组、模型组、熊果酸组共有的19个差异代谢物进行代谢通路进行拓扑分析和富集分析,筛选出关键的代谢通路,结果如图8所示,差异代谢物主要富集于亚油酸代谢(Linoleic acid metabolism)、乙醚脂质代谢(Ether lipid metabolism)、不饱和脂肪酸的生物合成(Biosynthesis of unsaturated fatty acids)、谷胱甘肽

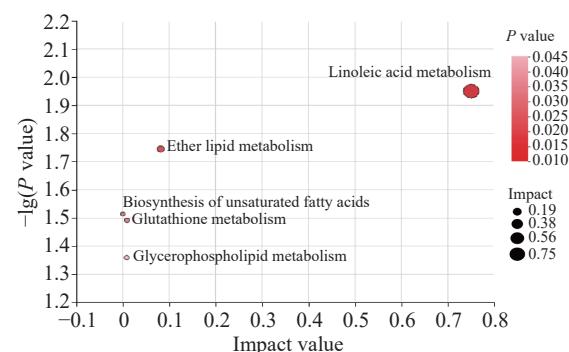


图8 小鼠肝脏组织差异代谢物的KEGG通路富集分析
Fig.8 KEGG pathway enrichment analysis of differential metabolites in mouse liver tissue

代谢(Glutathione metabolism)和甘油磷脂代谢(Glycerophospholipid metabolism)等代谢通路。

3 讨论与结论

熊果酸作为一种天然的三萜类化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、保护肝脏和心脏、调节脂代谢紊乱等多种生物学效应^[5]。

乙醇在代谢过程中会损伤肝细胞造成损伤, 使存在于肝细胞内 ALT 和 AST 释放进入血液中, 因此血清中 ALT 和 AST 的水平可以准确地反映肝细胞的损伤程度^[19]。乙醇的过量摄入也会破坏机体的脂质代谢平衡, 增加肝细胞摄取脂肪酸, 促进甘油三酯的合成和分泌, 也会降低肝细胞对胆固醇的利用和代谢^[20,21]。本研究与乔靖怡等^[22]研究结果相似, 单次摄入过量的乙醇会损伤肝细胞, 使血清中 ALT、AST、TC 和 TG 的水平显著升高, 而熊果酸预防给药则会使血清中的 ALT、AST、TC 和 TG 的水平显著降低。结果表明, 熊果酸可以减轻乙醇对肝脏造成的损伤, 调节乙醇引起的肝脏脂质代谢紊乱。

相关研究表明, 急性肝损伤主要与氧化应激和炎症反应等多个过程密切相关^[23]。乙醇在代谢过程产生的大量 ROS, 诱导细胞膜中的不饱和脂肪酸等发生氧化, 造成 MDA 等脂质过氧化物的累积, 使细胞膜的结构和功能受到破坏^[24]。SOD 和 GSH-Px 是机体抗氧化系统的重要组成部分, 可以维持机体的氧化还原稳态, 减轻氧化应激造成的损伤^[25-26]。相关研究指出, 饮酒可降低抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 的活力, 并增加脂质过氧化物 MDA 的水平^[27]。本研究与先前研究结果一致, 乙醇过量摄入会, 造成肝脏组织中 SOD 和 GSH-Px 酶活力水平显著降低, 而熊果酸预防给药则会使小鼠肝脏中的 SOD 和 GSH-Px 酶活力维持正常水平, 同时, 氧化应激水平的降低也减少了脂质过氧化物 MDA 的累积。这些结果也说明, 熊果酸可能是通过影响机体酶系统发挥抗氧化作用。

乙醇的摄入不仅会对肝细胞造成损伤, 也会激活肝巨噬细胞的免疫反应。病理切片结果显示, 肝细胞内出现空泡变性, 中央静脉周围出现明显的炎性细胞浸润。巨噬细胞通过释放炎症因子清除受损细胞和修复受损组织, 但过量的炎症因子会导致炎症反应加剧, 可能对组织造成更严重的损伤。研究指出, 急性酒精性肝损伤小鼠模型肝组织中促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等的表达水平显著提高^[28]。本研究结果表明, 乙醇的过量摄入使小鼠血清和肝脏中的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等促炎因子的水平显著提高, 而熊果酸预防给药可以显著降低血清和肝脏中促炎因子的水平。相关研究指出, 熊果酸可能通过抑制 ROS 产生和 NLRP3 炎症小体的激活, 下调炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达来发挥免疫调节的作用^[29]。这也与本研究中熊果酸具有抗氧化作用的结果相一致。大量的研究表明 NF- κ B 广泛参与机体炎症反应等蛋白表达的调控, 是机体内重要的炎症转录调控因子^[30]。研究发现, TLR4 协助刺激因子进入

肝细胞内形成刺激信号, 通过下游的 MyD88 向免疫细胞提供促炎信号, 诱导核转录因子 NF- κ B 活化, 诱导促炎因子的合成和释放^[31-32]。而释放的炎症因子会进一步刺激 NF- κ B 活化, 使炎症反应级联逐步放大, 导致炎症因子大量合成与释放, 诱发肝脏炎症损伤^[33]。相关研究也指出, 熊果酸通过调控 TLR4 信号通路可以改善大鼠酒精性肝损伤^[7]。本研究结果表明, 与对照组相比, 模型组小鼠肝脏组织中的 TLR4、MyD88、NF- κ B 和 p-NF- κ B 等蛋白的表达量显著升高, 熊果酸组小鼠的 TLR4、MyD88、NF- κ B 和 p-NF- κ B 等蛋白的表达量显著降低。说明熊果酸通过抑制 NF- κ B 信号通路的激活, 减少促炎因子的合成和分泌, 抑制乙醇过量摄入引起的炎症损伤。

为了进一步研究熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及机制, 我们对小鼠肝脏进行了非靶向代谢组学分析。本研究结果表明, 对照组、模型组和熊果酸组中共筛选出的 19 种差异代谢物可能是潜在的急性酒精性肝损伤生物标志物; 这些差异代谢物主要富集于亚油酸代谢、乙酰脂质代谢、不饱和脂肪酸的生物合成、谷胱甘肽代谢和甘油磷脂代谢等代谢通路。亚麻酸是构成细胞膜重要多不饱和脂肪酸, 乙醇的摄入使细胞膜的结构和功能被破坏, 磷脂被水解释放出游离亚麻酸, 使肝脏组织中的亚麻酸含量升高。酒精诱导的 ROS 水平升高会促使不饱和脂肪酸发生过氧化, 使脂质过氧化物产物累积, 这也与图 2 中 MDA 含量增加的结果相一致。溶血磷脂酰胆碱 (Lysophosphatidylcholines, LysoPC) 是磷脂中的一类物质, 是通过磷脂酰胆碱水解生成的, 肝脏是 LysoPC 合成和分解的主要组织。结果表明, 乙醇的摄入使 LysoPC(18:0/0:0)、LysoPC(20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/0:0) 和 LysoPC(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/0:0) 等溶血磷脂酰胆碱在肝脏中的表达水平降低。研究表明, 急性肝脏损伤会导致磷脂酰胆碱的合成受到抑制^[34]。磷脂酰胆碱的合成受阻则会进一步导致肝脏中 LysoPC 含量的减少, 熊果酸预防给药, 则会减轻乙醇诱导的肝脏损伤, 使 LysoPC 的含量有所恢复。这也进一步说明, 乙醇摄入使小鼠的脂质代谢发生了紊乱, 熊果酸预防给药可以减轻乙醇对肝脏造成的损伤, 缓解乙醇诱导的脂质代谢异常。谷胱甘肽是机体内最主要的抗氧化剂, 也是体内氧化防御系统的重要组成成分。谷氨酸、谷氨酸盐和谷氨酰肽等是谷胱甘肽合成的前体, 熊果酸通过促进谷胱甘肽的合成, 减轻乙醇摄入诱导的氧化损伤。

综上所述, 熊果酸预防给药对乙醇过量摄入诱发的急性酒精性肝损伤具有改善作用。熊果酸能显著降低急性酒精性肝损伤模型小鼠血清中 ALT、AST、TC 和 TG 的水平, 减轻乙醇引起的肝脏损伤。熊果酸通过提高肝脏组织中 SOD 和 GSH-Px 酶的活力, 减轻乙醇引起的肝脏氧化应激水平的升高; 通过调控 NF- κ B 信号通路蛋白表达水平的表

达,减少炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的释放,抑制乙醇摄入引起的炎症损伤。同时,代谢组学数据进一步揭示了熊果酸通过亚油酸代谢,乙酰脂质代谢,不饱和脂肪酸的生物合成,谷胱甘肽代谢和甘油磷脂代谢等代谢通路,减轻乙醇过量摄入引起的氧化应激水平升高和脂质代谢紊乱。因此,熊果酸通过抑制氧化应激、调节脂质代谢和减轻炎症损伤对急性酒精性肝损伤小鼠发挥保护作用,其作用机制可能与亚油酸代谢,乙酰脂质代谢,不饱和脂肪酸的生物合成,谷胱甘肽代谢和甘油磷脂代谢等代谢通路有关。目前对熊果酸缓解肝损伤机制的研究多集中于降低氧化应激水平和减轻炎症反应等方面的作用,本研究通过对肝脏进行代谢组学分析,为揭示熊果酸对急性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及机制提供了新的见解,也为富含熊果酸食品的功能开发提供了理论依据。但本文的不足之处仅利用肝脏代谢组学分析了熊果酸可能的作用机制,后续将会结合脂质组学和细胞生物学等深入研究熊果酸调控乙醇引起的肝脏氧化应激和脂质代谢紊乱的作用机制。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] HELMUT K S, RAMON B, HELENA C P, et al. Publisher correction: Alcoholic liver disease[J]. *Nature Reviews, Disease Primers*, 2018, 4(1): 18.
- [2] 曹燕峰,常立炀,张修正,等.海湾扇贝抗氧化肽对酒精性肝损伤的保护作用[J].*食品科学*,2024,45(19):87-93. [CAO Y F, CHANG L Y, ZHANG X Z, et al. The protective effect of antioxidant peptides from bay scallop on alcoholic liver injury[J]. *Food Science*, 2024, 45(19): 87-93.]
- [3] 冯晓焕,罗毅皓,冯声宝,等.青稞酒糟活性提取物对酒精性肝损伤小鼠的保护作用[J/OL].*食品与发酵工业*:1-13[2025-04-08]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.040771>. [FENG X H, LUO Y H, FENG S B, et al. Protective effect of active extract from barley lees on alcoholic liver injury in mice[J/OL]. *Food and Fermentation Industry*:1-13[2025-04-08]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.040771>.]
- [4] 邵仕娟,王浩,史雯馨,等.基于代谢组学探究葛根素对慢性酒精性肝损伤小鼠的保护作用[J].*食品工业科技*,2024,45(16):25-35. [SHAO S J, WANG H, SHI W X, et al. Exploring the protective effect of puerarin on chronic alcoholic liver injury in mice based on metabolomics[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(16): 25-35.]
- [5] 肖森,吴梦颖,刘凯会,等.熊果酸的提取工艺、生物活性及作用机制研究进展[J].*食品安全质量检测学报*,2023,14(19):179-188. [XIAO M, WU M Y, LIU K H, et al. Research progress on extraction process, biological activity and mechanism of action of ursolic acid[J]. *Journal of Food Safety and Quality Testing*, 2023, 14(19): 179-188.]
- [6] SLEVIN E, BAIOCCHI L, WU N, et al. Kupffer cells: Inflammation pathways and cell-cell interactions in alcohol-associated liver disease[J]. *Am J Pathol*, 2020, 190(11): 2185-2193.
- [7] 杨冬晗,贾逸林,张文龙,等.基于TLR4信号通路探讨熊果酸改善大鼠酒精性肝损伤的作用机制[J].*现代预防医学*,2021,48(6):1099-102,127. [YANG D H, JIA Y L, ZHANG W L, et al. Exploring the mechanism of ursolic acid in improving alcoholic liver injury in rats based on the TLR4 signaling pathway[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2021, 48(6): 1099-102,127.]
- [8] 黄雪玲,李进,张俊.扁桃果皮熊果酸对酒精性肝损伤保护作用研究[J].*新疆师范大学学报(自然科学版)*,2024,43(1):76-82. [HUANG X L, LI J, ZHANG J. Study on the protective effect of ursolic acid from almond peel on alcoholic liver injury[J]. *Journal of Xinjiang Normal University (Natural Science Edition)*, 2024, 43(1): 76-82.]
- [9] 孙悦,张文龙,李楠,等.沙棘熊果酸对酒精性肝损伤大鼠肝FXR信号通路的影响[J].*食品工业科技*,2023,44(5):363-370. [SUN Y, ZHANG W L, LI N, et al. The effect of seabuckthorn ursolic acid on the hepatic FXR signaling pathway in rats with alcoholic liver injury[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(5): 363-370.]
- [10] MA X Y, ZHANG M, FANG G, et al. Ursolic acid reduces hepatocellular apoptosis and alleviates alcohol-induced liver injury via irreversible inhibition of CASP3 *in vivo*[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2021, 42(7): 1101-1110.
- [11] 包艳红,王强,张文龙,等.沙棘熊果酸通过调节线粒体-细胞色素c抑制酒精性肝病大鼠模型肝细胞凋亡的作用分析[J].*临床肝胆病杂志*,2023,39(7):1617-1626. [BAO Y H, WANG Q, ZHANG W L, et al. Analysis of the effect of seabuckthorn ursolic acid on inhibiting hepatocyte apoptosis in alcoholic liver disease rat model by regulating mitochondrial cytochrome c[J]. *Journal of Clinical Hepatobiliary Diseases*, 2023, 39(7): 1617-1626.]
- [12] MCGILL M R. The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers[J]. *EXCLI Journal*, 2016, 15: 817-828.
- [13] 王秋艳,丁慧敏,朱亚男,等.多汁乳菇多糖对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J].*食品工业科技*,2021,42(24):313-319. [WANG Q Y, DING M H, ZHU Y N, et al. The protective effect of juicy milk mushroom polysaccharides on acute alcoholic liver injury in mice[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(24): 313-319.]
- [14] MIN Y, GAVIN E, ARTEEL, et al. Effect of ethanol on lipid metabolism[J]. *Journal of Hepatology*, 2019, 70(2): 237-248.
- [15] CONTRERAS-ZENTELLA M L, VILLALOBOS-GARCÍA D, HERNÁNDEZ-MUÑOZ R. Ethanol metabolism in the liver, the induction of oxidant stress, and the antioxidant defense system[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(7): 1258.
- [16] CYNTHIA J, PRANOTI M. Macrophages and alcohol-related liver inflammation[J]. *Alcohol Research: Current Reviews*, 2015, 37(2): 251-262.
- [17] 伍振辉,孟娴,胡佳伟,等.TLR4-MyD88-NF- κ B信号通路与肝炎-肝纤维化-肝癌轴相关性研究进展[J].*国际药学研究杂志*,2017,44(5):396-401. [WU Z H, MENG X, HU J W, et al. Research progress on the correlation between TLR4 MyD88 NF κ B signaling pathway and the hepatitis liver fibrosis liver cancer axis[J]. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 2017, 44(5): 396-401.]
- [18] TAO K, PENG H, BI X, et al. Effect of *tetrastigma hemsleyanum* leaves and extract supplementation on liver metabolomics and the gut microbiota in alcohol-induced liver injury[J]. *Food Bio-science*, 2024, 58: 103617.
- [19] 杨佳,党凯,薛美兰,等.岩藻多糖对酒精暴露小鼠肝损伤的

- 保护作用及机制[J]. 食品科学, 2023, 44(3): 137–145. [YANG J, DANG K, XUE M L, et al. The protective effect and mechanism of fucoidan on liver injury in alcohol exposed mice[J]. Food Science, 2023, 44(3): 137–145.]
- [20] ZHANG N, HU Y, DING C, et al. Salvianolic acid B protects against chronic alcoholic liver injury via SIRT1-mediated inhibition of CRP and ChREBP in rats[J]. *Toxicology Letters*, 2017, 267: 1–10.
- [21] LIU Y K, JIAN Z G, WANG X D, et al. Cytochrome P450 2E 1 contributes to ethanol-induced fatty liver in mice[J]. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 2008, 47(5): 1483–1494.
- [22] 乔靖怡, 汪保英, 栗俞程, 等. 金丝桃苷对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(3): 30–33.
- [QIAO J Y, WANG B Y, LI Y C, et al. The protective effect of hyperoside on acute alcoholic liver injury in mice[J]. *Pharmacology and Clinical Practice of Traditional Chinese Medicine*, 2017, 33(3): 30–33.]
- [23] 伍智慧, 冉喆, 张晴晴, 等. 枸杞多糖对四氯化碳致急性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 宁夏医科大学学报, 2021, 43(4): 364–370.
- [WU Z H, RAN J, ZHANG J J, et al. The protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice[J]. *Journal of Ningxia Medical University*, 2021, 43(4): 364–370.]
- [24] 周宏炫, 黄颖, 谭书明, 等. 刺梨多酚对急性酒精中毒大鼠的解酒和护肝作用[J]. 食品科学, 2021, 42(17): 163–169. [ZHOU H X, HUANG Y, TAN S M, et al. The sobering and hepatoprotective effects of prickly pear polyphenols on acute alcohol poisoning rats[J]. *Food Science*, 2021, 42(17): 163–169.]
- [25] 栗雯华, 王强, 郭晓彤, 等. 异甘草素对小鼠酒精性肝损伤的影响[J]. 中国兽医学报, 2023, 43(11): 2314–2320. [LI W H, WANG Q, GUO X T, et al. The effect of isoliquiritigenin on alcoholic liver injury in mice[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2023, 43(11): 2314–2320.]
- [26] GAO Y, SHI W, YAO H Y, et al. An integrative pharmacology based analysis of refined liuweiwuling against liver injury: A novel component combination and hepatoprotective mechanism[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 747010.
- [27] HUANG C H, CHANG Y Y, LIU C W, et al. Fruiting body of *Niuchangchih* (*Antrodia camphorata*) protects livers against chronic alcohol consumption damage[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(6): 3859–3866.
- [28] SUN L L, WEN S, LI Q H, et al. L-theanine relieves acute alcoholic liver injury by regulating the TNF- α /NF- κ B signaling pathway in C57BL/6J mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 86: 104699.
- [29] 史颖颖, 冯金梅, 黄丽霞, 等. 熊果酸对脂多糖诱导的人髓系白血病单核细胞来源巨噬细胞炎性因子的调节作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(13): 1663–1667. [SHI Y Y, FENG J M, HUANG L X, et al. Regulatory effect of ursolic acid on inflammatory factors induced by lipopolysaccharide in monocyte derived macrophages of human myeloid leukemia[J]. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2021, 37(13): 1663–1667.]
- [30] KAUR U, BANERJEE P, BIR A, et al. Reactive oxygen species, redox signaling and neuroinflammation in Alzheimer's disease: the NF- κ B connection[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2015, 15(5): 446–457.
- [31] WANG Z Y, HAN S, CHEN X J, et al. Evala inhibits NL-RP3 activation to reduce liver ischemia-reperfusion injury via inducing autophagy in kupffer cells[J]. *Molecular Immunology*, 2021, 132: 82–92.
- [32] ZHU Y, RUAN SH L, SHEN H P, et al. Oridonin regulates the polarized state of Kupffer cells to alleviate nonalcoholic fatty liver disease through ROS-NF- κ B[J]. *International Immunopharmacology*, 2021, 101: 108290.
- [33] WEN B J, ZHANG C C, ZHANG J W, et al. Targeted treatment of alcoholic liver disease based on inflammatory signalling pathways[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2020, 222: 107752.
- [34] CHAMULITRAT W, ZHANG W, XU W, et al. Hepatoprotectant ursodeoxycholyl lysophosphatidylethanolamide increasing phosphatidylcholine levels as a potential therapy of acute liver injury[J]. *Frontiers in Physiology*, 2012, 3.