

[22] Ayuob N N, Firgany A E L, El-Mansy A A, *et al.* Can Ocimum basilicum relieve chronic unpredictable mild stress-in-

duced depression in mice? [J]. *Exp Mol Pathol*, 2017, 103 (2): 153-161.

沙棘熊果酸调控 NLRP3/caspase-1 轴在抗结核药物致人肝细胞损伤中的作用

窦增花¹, 于国英²
(1. 青海省第四人民医院, 青海 西宁 810000; 2. 青海省第四人民医院肝病科, 青海 西宁 810000)

摘要: **目的** 探究沙棘熊果酸调控 NLRP3/caspase-1 轴在抗结核药物致人肝细胞损伤中的作用。**方法** 正常肝细胞株 HL-7702 分正常组、模型组及沙棘熊果酸低、中、高浓度组。除正常组外, 其余各组 120 μg/mL 异烟肼和 240 μg/mL 利福平联合处理构建抗结核药物致人肝细胞损伤模型, 沙棘熊果酸低、中、高浓度组同时添加 0.018、0.18、1.8 μmol/L 沙棘熊果酸共培养。CCK-8 法检测细胞增殖能力; ELISA 检测上清液中 TNF-α、白 IL-1β 水平; SOD 活性检测试剂盒、MDA 检测试剂盒检测上清液中 SOD、MDA 水平; 流式细胞术检测细胞凋亡能力; 蛋白免疫印迹检测细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平。**结果** 与正常组比较, 模型组 (12、24、36 h) 细胞存活率、上清液中 SOD 水平降低 ($P<0.05$); 上清液中 TNF-α、IL-1β、MDA 水平, 细胞凋亡率, 细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, 沙棘熊果酸低、中浓度组 (24、36 h)、沙棘熊果酸高浓度组 (12、24、36 h) 细胞存活率, 沙棘熊果酸低、中、高浓度组上清液中 SOD 水平升高 ($P<0.05$); 沙棘熊果酸低、中、高浓度组上清液中 TNF-α、IL-1β、凋亡率、细胞中 NLRP3 蛋白水平, 沙棘熊果酸中、高浓度组上清液中 MDA, 细胞中 pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平降低 ($P<0.05$)。随着沙棘熊果酸浓度的升高, (12、24、36 h) 细胞存活率、上清液中 SOD 水平逐渐升高 ($P<0.05$); 上清液中 TNF-α、IL-1β、MDA、凋亡率, 细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平逐渐降低 ($P<0.05$), 呈浓度依赖效应。**结论** 沙棘熊果酸在抗结核药物致人肝细胞中抑制 NLRP3/caspase-1 通路从而抑制炎症和氧化应激, 抑制细胞病变发生, 从而促进细胞增殖、抑制细胞凋亡, 实现对肝细胞的保护。

关键词: 沙棘熊果酸; 肝细胞损伤; 抗结核药物; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3/半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)05-1319-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.05.041

结核病是一种慢性传染病, 目前世界卫生组织推荐使用异烟肼和利福平联合治疗, 但造成的人肝细胞损伤是并发症之一^[1]。肝细胞损伤会降低肝细胞活力、导致细胞凋亡, 从而引发疾病^[2]。减缓肝损伤可有助于结核病的治疗, 沙棘具有抗炎、抗肥胖作用, 可明显修复损伤的肝细胞^[3], 沙棘中熊果酸具有抗炎、抗菌、抗凋亡等作用从而保护细胞^[4-5]。但沙棘熊果酸在抗结核药物致人肝细胞损伤中的作用却未发现相关研究。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3) /半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (cysteine-containing aspartate-specific-3 proteases-1, caspase-1) 炎症信号通路在肝损伤模型中表达上调, 可能参与肝细胞损伤过程, 是引发炎症反应的重要因素^[6]。本研究建立抗结核药物致人肝细胞损伤模型, 探究沙棘熊果酸对肝

细胞损伤的保护作用, 并初步探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 细胞 正常人肝细胞株 HL-7702 (中国科学院细胞库, 目录号 GNHu6)。

1.2 药物、试剂及仪器 沙棘果采摘于新疆维吾尔自治区昌吉回族自治州, 经青海省第四人民医院分离并提纯, 鉴定沙棘熊果酸使用红外光谱、高效液相色谱、核磁共振联合鉴定, 纯度 94.2%。异烟肼购自上海信谊药厂有限公司, 国药准字 H31020494; 利福平购自山西云鹏制药有限公司, 国药准字 H34022401; CCK-8 试剂盒、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性检测试剂盒、丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 检测试剂盒、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒均购自碧云天生物科技有限公司, 货号分别为 C0037、S0103、S0131、C1062S; 人肿瘤坏死因子-α

(Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)、白 介 素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒、一抗 NLRP3 (兔抗)、pro-caspase-1 (兔抗)、caspase-1 (p10) (兔抗)、GADPH (兔抗)、二抗羊抗兔均购自美国 abcam 公司, 货号 分 别 为 ab181421、ab46052、ab232401、ab179515、ab179515、ab181602、ab6721。

1.3 仪器 CO₂ 培养箱购自德国 WIGGENS, 型号 WCI-180; 酶标仪购自美国 Awareness 公司, 型号 4700; 流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特公司, 型号 CytoFLEX; 蛋白凝胶成像仪购自上海天能科技有限公司, 型号 5200。

1.4 建立抗结核药物致人肝细胞损伤模型 实验前 90% RPMI1640 培养基添加 10% 胎牛血清制成 RPMI 1640 完全培养基, 混匀后置 4 ℃ 冰箱备用。正常人肝细胞株 HL-7702 添加 RPMI1640 完全培养基于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱培养, 分为正常组、模型组、沙棘熊果酸低浓度组、沙棘熊果酸中浓度组、沙棘熊果酸高浓度组, 每组设置 6 个重复。细胞传 2~3 代且处于对数生长期时抗结核药物诱导。

异烟肼和利福平分别用 RPMI1640 完全培养基溶解, 制成 1.2 mg/mL 储存液备用。沙棘熊果酸用 RPMI1640 完全培养基制成 1.8 mmol/L 储存液备用。对数生长期细胞以 2×10⁵/孔接种于 96 孔板和 2×10⁶/孔接种于 6 孔板中, 除正常组外, 其余各组 120 μg/mL 异烟肼和 240 μg/mL 利福平^[1]处理, 沙棘熊果酸低、中、高浓度组同时添加 0.018、0.18、1.8 μmol/L 沙棘熊果酸^[7]共培养, 正常组和模型组 RPMI1640 完全培养基培养。

1.5 CCK-8 法检测细胞增殖能力 细胞接种于 96 孔板细胞, 分别于共培养 12、24、36 h 添加 CCK-8 试剂, 培养箱中继续培养 2 h, 酶标仪检测 450 nm 处各孔吸光度 (OD)。细胞存活率 = $OD_{450\text{实验组}} / OD_{450\text{空白组}} \times 100\%$ 。

1.6 ELISA 检测上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平 细胞接种于 6 孔板中细胞共培养 24 h 时分别收集细胞培养液, 3 000 r/min 离心 5 min 收集上清, 分装置于 4 ℃ 冰箱待用。取出部分上清液, 按照人 TNF- α 、IL-1 β ELISA 试剂盒说明书检测上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平。

1.7 试剂盒检测上清液中 SOD、MDA 水平 收集“1.6”项下细胞处理上清液, 严格按照 SOD 活性检测试剂盒、MDA 检测试剂盒步骤进行。酶标仪检测 SOD、MDA 水平。

1.8 流式细胞术检测细胞凋亡能力 细胞接种于 6 孔板中细胞共培养 24 h, 每孔取 1×10⁶ 个细胞, 按照 AnnexinV-FITC 试剂盒说明书, 添加 195 μL Annexin V-FITC 结合液、5 μL Annexin V-FITC 轻轻混匀, 然后加入 10 μL 碘化丙啶染色液轻轻混匀。室温避光孵育 20 min, 流式细胞仪 1 h 内检测细胞凋亡率, 并用 Beckman Coulter 软件分析, 细胞早期凋亡和晚期凋亡总和为细胞凋亡率。

1.9 蛋白免疫印迹检测细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平 细胞接种于 6 孔板共培养细胞, 待培养密度达 80% 左右时, 每个培养皿中添加 200 μL

Trizol, 冰上裂解 10 min, 收集细胞混合液, 10 000 *g* 离心 10 min 收集上清即为细胞总蛋白, 凝胶电泳分离蛋白质后转膜; 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h; 对应加入一抗 NLRP3 (1 : 5 000)、pro-caspase-1 (1 : 1 000)、caspase1 (p10) (1 : 1 000)、GADPH (1 : 10 000), 4 ℃ 孵育过夜; 加入对应二抗, 室温孵育 1 h。DAB 显色试剂盒避光显色, 蛋白凝胶成像仪拍照, 并用 Image J 定量分析。

1.10 统计分析 统计学软件 SPSS 25.0 进行数据分析, 计量数据以平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 多组比较用单因素方差分析, 组间两两比较采用 *SNK-q* 法。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 沙棘熊果酸对细胞增殖的影响 与正常组比较, 模型组 (12、24、36 h) 细胞存活率降低 (*P* < 0.05)。与模型组比较, 沙棘熊果酸低、中浓度组 (24、36 h)、沙棘熊果酸高浓度组 (12、24、36 h) 细胞存活率升高 (*P* < 0.05)。与沙棘熊果酸低浓度组比较, 沙棘熊果酸中浓度组 (24、36 h)、沙棘熊果酸高浓度组 (12、24、36 h) 细胞存活率升高 (*P* < 0.05)。与沙棘熊果酸中浓度组比较, 沙棘熊果酸高浓度组 (12、24 h) 细胞存活率升高 (*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 沙棘熊果酸对细胞存活率的影响 (% , $\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

组别	12 h	24 h	36 h
正常组	100.00±0.00	98.89±1.69	100.03±1.02
模型组	76.18±6.89 ^a	52.93±4.89 ^a	46.58±6.23 ^a
沙棘熊果酸低浓度组	79.16±4.18	68.13±5.19 ^b	71.52±6.10 ^b
沙棘熊果酸中浓度组	82.51±4.95	79.32±6.56 ^{bc}	86.66±4.82 ^{bc}
沙棘熊果酸高浓度组	92.56±3.96 ^{bcd}	94.60±4.73 ^{bcd}	91.62±5.86 ^{bc}

注: 与正常组比较, ^a*P* < 0.05; 与模型组比较, ^b*P* < 0.05; 与沙棘熊果酸低浓度组比较, ^c*P* < 0.05; 与沙棘熊果酸中浓度组比较, ^d*P* < 0.05。

2.2 沙棘熊果酸对上清液中 TNF- α 、IL-1 β 的影响 与正常组比较, 模型组上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平升高 (*P* < 0.05)。与模型组比较, 沙棘熊果酸低、中、高浓度组上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平降低 (*P* < 0.05)。与沙棘熊果酸低浓度组比较, 沙棘熊果酸高浓度组上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、沙棘熊果酸中浓度组上清液中 TNF- α 水平降低 (*P* < 0.05)。见表 2。

表 2 沙棘熊果酸对上清液中 TNF- α 、IL-1 β 的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

组别	TNF- α / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	IL-1 β / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
正常组	63.59±6.19	126.96±42.53
模型组	96.31±8.51 ^a	469.81±85.63 ^a
沙棘熊果酸低浓度组	86.25±4.69 ^b	316.28±62.62 ^b
沙棘熊果酸中浓度组	70.60±6.52 ^{bc}	253.61±59.82 ^b
沙棘熊果酸高浓度组	64.99±6.18 ^{bc}	194.19±27.81 ^{bc}

注: 与正常组比较, ^a*P* < 0.05; 与模型组比较, ^b*P* < 0.05; 与沙棘熊果酸低浓度组比较, ^c*P* < 0.05。

2.3 沙棘熊果酸对上清液中 SOD、MDA 水平的影响 与正常组比较, 模型组上清液中 SOD 水平降低、MDA 水平升

高 ($P<0.05$)。与模型组比较,沙棘熊果酸低、中、高浓度组上清液中 SOD 水平升高 ($P<0.05$),沙棘熊果酸中、高浓度组上清液中 MDA 水平降低 ($P<0.05$)。与沙棘熊果酸低浓度组比较,沙棘熊果酸中、高浓度组上清液中 SOD 水平升高 ($P<0.05$),沙棘熊果酸高浓度组上清液中 MDA 水平降低 ($P<0.05$)。与沙棘熊果酸中浓度组比较,沙棘熊果酸高浓度组上清液中 SOD 水平升高、MDA 水平降低 ($P<0.05$)。见表 3。

2.4 沙棘熊果酸对细胞凋亡的影响 沙棘熊果酸处理 24 h,与正常组比较,模型组细胞凋亡率升高 ($P<0.05$)。与模型组比较,沙棘熊果酸低、中、高浓度组凋亡率降低 ($P<0.05$)。与沙棘熊果酸低浓度组比较,沙棘熊果酸中、

表 3 沙棘熊果酸对上清液中 SOD、MDA 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)
正常组	86.13±6.51	0.95±0.16
模型组	21.68±4.69 ^a	1.89±0.31 ^a
沙棘熊果酸低浓度组	34.91±6.13 ^b	1.73±0.25
沙棘熊果酸中浓度组	46.18±5.39 ^{bc}	1.41±0.33 ^b
沙棘熊果酸高浓度组	59.99±6.21 ^{bed}	0.98±0.21 ^{bed}

注:与正常组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$;与沙棘熊果酸低浓度组相比,^c $P<0.05$;与沙棘熊果酸中浓度组相比,^d $P<0.05$ 。高浓度组凋亡率降低 ($P<0.05$)。与沙棘熊果酸中浓度组比较,沙棘熊果酸高浓度组凋亡率降低 ($P<0.05$)。见图 1、表 4。

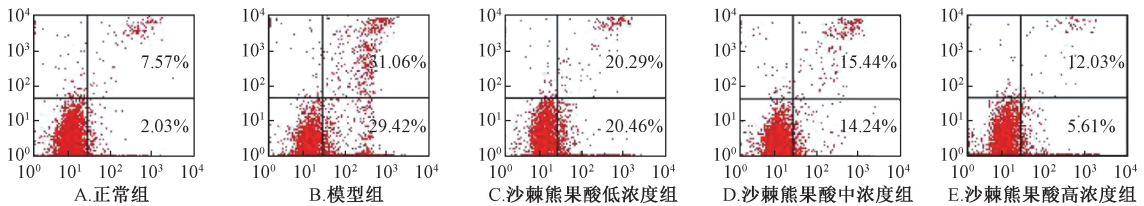


图 1 沙棘熊果酸对细胞凋亡的影响

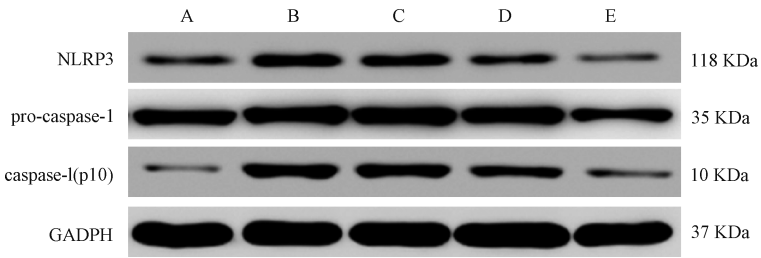
表 4 沙棘熊果酸对细胞凋亡率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	凋亡率/%
正常组	9.32±2.16
模型组	62.41±5.36 ^a
沙棘熊果酸低浓度组	46.19±3.92 ^b
沙棘熊果酸中浓度组	30.29±5.16 ^{bc}
沙棘熊果酸高浓度组	16.94±2.18 ^{bed}

注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与沙棘熊果酸低浓度组比较,^c $P<0.05$;与沙棘熊果酸中浓度组比较,^d $P<0.05$ 。

2.5 沙棘熊果酸对细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-

1 (p10) 蛋白水平的影响 与正常组比较,模型组细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平升高 ($P<0.05$)。与模型组比较,沙棘熊果酸低浓度组细胞中 NLRP3 蛋白水平,沙棘熊果酸中、高浓度组细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平降低 ($P<0.05$)。与沙棘熊果酸低浓度组比较,沙棘熊果酸中、高浓度组细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平降低 ($P<0.05$)。与沙棘熊果酸中浓度组比较,沙棘熊果酸高浓度组细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平降低 ($P<0.05$)。见图 2、表 5。



注: A 为正常组、B 为模型组、C 为沙棘熊果酸低浓度组、D 为沙棘熊果酸中浓度组、E 为沙棘熊果酸高浓度组。

图 2 沙棘熊果酸对细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平的影响

表 5 沙棘熊果酸对细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1 (p10) 蛋白水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	NLRP3	pro-caspase-1	caspase-1 (p10)
正常组	0.16±0.02	0.63±0.13	0.06±0.01
模型组	0.53±0.11 ^a	0.98±0.21 ^a	0.54±0.06 ^a
沙棘熊果酸低浓度组	0.33±0.06 ^b	0.99±0.13	0.49±0.03
沙棘熊果酸中浓度组	0.26±0.02 ^{bc}	0.79±0.11 ^{bc}	0.31±0.01 ^{bc}
沙棘熊果酸高浓度组	0.13±0.02 ^{bed}	0.54±0.06 ^{bed}	0.11±0.02 ^{bed}

注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与沙棘熊果酸低浓度组比较,^c $P<0.05$;与沙棘熊果酸中浓度组比较,^d $P<0.05$ 。

3 讨论

结核病导致肝损伤可能与抗结核药物及其代谢产物的直接作用、炎症、氧化应激、基因多态性、蛋白酶失活等多方面相关^[8]。目前抗肺结核药物导致的肝损伤危害严重,是中国药物肝损伤常见原因之一,可造成患者肝衰竭甚至威胁生命,部分患者不得不停止抗结核治疗,从而影响结核疗效^[9]。抗结核药物损害肝功能目前尚缺乏特异性治疗手段,治疗原则以减少并发症为主。因此寻找特异性药

物针对性治疗抗结核病药物肝损伤对结核病治疗较为关键。沙棘熊果酸属乌苏烷型五环三萜类化合物，具有抗炎、抗菌、免疫调节、抗变态反应的功能，对心脏、肾等具有保护作用^[10]，可能在抗结核药物致肝损伤中发挥作用。

IL-1 β 可促进炎症反应，在炎症疾病中高表达会诱发炎症机制；TNF- α 是炎症反应中出现最早、最重要的炎症介质；IL-1 β 和 TNF- α 可反映肝细胞损伤炎症程度^[11]。炎症反应伴随氧化应激反应，SOD 和 MDA 是机体最常见的两类氧化应激指标，SOD 反映机体清除氧自由基水平；MDA 可反映机体过氧化物程度，与细胞损伤程度呈正比^[12]。沙棘熊果酸在胶原性关节炎大鼠中可调节促炎因子和抗炎因子的平衡从而实现对大鼠的保护^[13]；在糖尿病肾脏中可降低血清和肾脏中 IL-1 β 、TNF- α 、MDA 水平，升高 SOD 水平实现对肾脏的保护^[14]。沙棘熊果酸的直接作用靶标基因中有 TNF- α 、IL-1 β ，沙棘熊果酸可抑制 TNF- α 、IL-1 β 发挥肝细胞抗炎作用^[15]；实现抗氧化作用可减轻对细胞干脂肪病变^[16]；抑制肠组织细胞凋亡可改善肠组织病变从而实现大鼠肠系膜缺血性再灌注损伤的保护^[17]。本研究发现与正常组比较，模型组（12、24、36 h）细胞存活率、上清液中 SOD 水平降低；上清液中 TNF- α 、IL-1 β 、MDA 水平，细胞凋亡率升高，提示抗结核药物处理肝细胞后细胞分泌炎症因子水平升高，细胞氧化应激加剧，造成肝细胞损伤，抑制肝细胞存活、促进肝细胞凋亡。与模型组比较，沙棘熊果酸低、中、高浓度组（12、24、36 h）细胞存活率、上清液中 SOD 升高，凋亡率、上清液中 TNF- α 、IL-1 β 降低；沙棘熊果酸中、高浓度组上清液中 MDA 水平降低，提示沙棘熊果酸处理抗结核药物造成的肝细胞损伤可使促炎因子水平降低、氧化应激作用减弱，促进细胞增殖、抑制凋亡，使细胞病变情况减弱；且随着沙棘熊果酸浓度的增加，上述水平变化越明显。

NLRP3 炎症小体可由 TNF- α 、脂多糖、病毒、真菌活化，活化的 NLRP3 可激活 caspase-1 并促进 IL-1 β 表达及氧化应激；负调控 NLRP3/caspase-1 可缓解疾病进程^[18]。在大鼠肝纤维化模型中，沙棘熊果酸可改善肝纤维化，减少 NLRP3、IL-1 β 活化，减少肝内胶原沉淀从而实现对肝细胞的保护^[19]。本研究发现与正常组比较，模型组细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1（p10）蛋白水平升高，提示在抗结核药物致肝细胞损伤中 NLRP3 炎症小体被激活，激活后的 NLRP3 促进 caspase-1 表达从而加重炎症反应和疾病进程。与模型组比较，沙棘熊果酸低浓度组细胞中 NLRP3 蛋白水平，沙棘熊果酸中、高浓度组细胞中 NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1（p10）蛋白水平降低；随着浓度的增加，NLRP3、pro-caspase-1、caspase-1（p10）逐渐降低，呈依赖效应，提示沙棘熊果酸可抑制 NLRP3/caspase1 轴表达，从而降低 caspase1 和 IL-1 β 水平，抑制炎症因子、降低氧化应激从而抑制细胞增殖减缓抗结核药物致肝损伤，实现对肝细胞的保护作用。

综上所述，沙棘熊果酸可抑制 NLRP3/caspase1 轴从而

抑制炎症因子、抑制氧化应激水平，促进肝细胞增殖、抑制肝细胞凋亡，从而实现对抗结核病肝细胞损伤的保护作用。但沙棘熊果酸药理机制复杂，本实验只研究一个通路的变化情况，其可能影响多个通路，发现新的通路是接下来研究重点。

参考文献：

[1] 张一杨, 李莹淑, 李金凤, 等. SIRT1 及相关因子在抗结核药物致人肝细胞损伤中的作用[J]. 重庆医学, 2018, 47 (31): 7-9.

[2] Ding H, Wen Z. Overexpression of C sis inhibits H₂O₂ induced Buffalo rat liver cell apoptosis *in vitro* and alleviates liver injury in a rat model of fulminant hepatic failure[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(2): 873-882.

[3] 薛延团, 张晓凤, 张育浩, 等. 沙棘甾醇降血脂作用评价[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(7): 129-137.

[4] Dan M Y, Nan Z, Yang Z W, *et al.* Two new ursane-type nortriterpenes from *Lonicera macranthoides* and their iNOS-inhibitory activities[J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(1): 27-32.

[5] Jung J, Seo J, Kim J, *et al.* Ursolic acid causes cell death in PC-12 cells by inducing apoptosis and impairing autophagy[J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(2): 847-853.

[6] 于 宁, 宋 囡, 贾连群, 等. 人参皂苷 Rb1 对高脂血症大鼠肝脏细胞焦亡的影响及其可能机制[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(7): 1283-1288.

[7] 卢 静, 郭文秀, 关 爽, 等. 熊果酸对小鼠肝细胞损伤的保护作用[J]. 毒理学杂志, 2009, 23(6): 46-48.

[8] 杨 松, 郭建琼, 严晓峰. 抗结核药物性肝损伤发生机制的研究进展[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2019, 42(5): 378-381.

[9] 中华医学会结核病学分会. 抗结核药物性肝损伤诊治指南(2019 年版) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2019, 42(5): 343-356.

[10] 鲜瑶瑶, 周 俭, 曾 光, 等. 熊果酸对胶原诱导性关节炎大鼠外周血 Th17/Treg 细胞比例失衡的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(5): 1110-1114.

[11] Guo Z D, Zhao L, Wang P, *et al.* Fetal liver injury ameliorated by migration inhibitory factor inhibition in a rat model of acute pancreatitis in pregnancy: fetal liver injury in acute pancreatitis[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2018, 44(3): 374-383.

[12] Robinett N G, Peterson R L, Culotta V C. Eukaryotic Cu-only superoxide dismutases (SODs): A new class of SOD enzymes and SOD-like protein domains[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293 (13): 182-196.

[13] 鲜瑶瑶, 周 俭, 曾 光, 等. 熊果酸对胶原诱导性关节炎大鼠关节炎症相关因子 mRNA 表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(6): 689-692.

[14] 尹江宁, 汪华君, 卢国元, 等. 熊果酸对糖尿病肾病大鼠足细胞损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17): 132-138.

[15] 杨 欣, 李亚辉, 钱海兵, 等. 基于网络药理学及分子对

接分析熊果酸抗类风湿性关节炎的分子机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18): 207-214.

[16] Yang H M, Yin Z Q, Zhao M G, *et al.* Pentacyclic triterpenoids from *Cyclocarya paliurus* and their antioxidant activities in FFA-induced HepG2 steatosis cells[J]. *Phytochemistry*, 2018, 151(6): 119-127.

[17] 周 宁, 杨 标. 熊果酸对大鼠肠系膜缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(4): 108-112.

[18] Xu F B, Ji Q, Zhang J, *et al.* AlCl₃, inhibits LPS-induced NLRP3 inflammasome activation and IL-1 β production through suppressing NF- κ B signaling pathway in murine peritoneal macrophages[J]. *Chemosphere*, 2018, 456(18): 463-472.

[19] 黄晨恺, 甘达凯, 张 望, 等. 熊果酸对肝纤维化大鼠 NOX2/ROS/NLRP3 炎性小体活化的影响[J]. 基础医学与临床, 2018, 38(4): 485-491.

苦参及其不同炮制品水煎液对抗葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎作用比较

刘 悦^{1,2}, 单丽倩^{1,2}, 高 慧^{1,2*}
(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600)

摘要: **目的** 比较苦参及其不同炮制品水煎液对溃疡性结肠炎小鼠的治疗作用。**方法** 将 70 只 C57BL/6 小鼠随机分为空白组、模型组、生苦参组、苦参炭组、醋苦参组、麸炒苦参组、米泔制苦参组, 每组 10 只。实验前 5 d, 除空白组自由饮用无菌水外, 其余各组均自由饮用含 2.5% 葡聚糖硫酸钠 (DSS) 的无菌水造模, 第 6 天饮用水全部换成蒸馏水。空白组、模型组每日灌胃生理盐水 0.1 mL/10 g, 各给药组每日灌胃相应药液 (5 g/kg), 自实验第 1 天起连续给药 12 d, 每天观察小鼠体质量、粪便性状、隐血便血情况, 评分并计算疾病活动指数 (DAI); 第 13 天, 摘取结肠, 测量长度, 苏木素-伊红 (HE) 染色后显微镜下观察结肠病理变化; ELISA 法检测小鼠血清中的 IL-17、IL-6、TNF- α 、MPO 的水平; 测定小鼠结肠中 caspase-1、NLRP3、IL-1 β 、NF- κ Bp65 表达。**结果** 与模型组比较, 各给药组 DAI 评分降低 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$), 血清中 IL-17、IL-6、TNF- α 、MPO 及结肠中 caspase-1、NLRP3、IL-1 β 、NF- κ Bp65 的水平降低 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$); 麸炒苦参及米泔水苦参较生苦参组指标降低 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。**结论** 苦参及其不同炮制品均能有效减轻小鼠实验性溃疡性结肠炎, 缓解炎症反应, 麸炒苦参和米泔水苦参作用更好, 其机制可能与抑制 NF- κ B 信号通路, 减少炎症因子释放相关。

关键词: 苦参; 炮制; 麸炒苦参; 米泔制苦参; 苦参炭; 结肠炎

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)05-1323-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.05.042

苦参为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根, 主要功效为清热燥湿、杀虫、利尿。用于热痢、便血、黄疸尿闭、赤白带下、阴肿阴痒等^[1]。炮制专书《雷公炮制论》中记载“苦参, 凡使, 不计多少, 先用糯米浓汁浸一宿, 上有腥秽气, 并在水面上浮, 并需重重淘过, 即蒸, 从巳至申, 出, 晒干, 细挫用之”;《得配本草》中记载“醋炒, 治少腹热痛”;《全国中药炮制规范》中收载苦参及苦参炭, 其中苦参炭止血治痢, 用于热痢, 便血;《全国中药炮制经验和规范集成》中记载贵州和江西地区用苦参须经麸炒。可见古代文献记载苦参在用药前是需经过炮制加工的, 但现代苦参应用以生品为主, 经调研广东、江

苏、辽宁等地中医院, 基本未见苦参炮制品的临床应用, 现代对于苦参的炮制品研究亦较少, 仅有苦参及其炮制品的化学成分鉴别及含量的研究, 如苦参炭的薄层色谱鉴别^[2], 炮制对苦参中苦参碱和氧化苦参碱含量的影响^[3], 苦参及其炮制品的药效学研究较少, 因此本实验从古代书籍、历版《中国药典》、全国及各省中药炮制规范、《中药炮制学》教材中查找苦参的历代炮制品, 对苦参炮制作用进行研究, 为苦参不同炮制品的临床合理使用提供实验依据。

溃疡性结肠炎 (UC) 是一种病因尚不十分清楚的慢性非特异性肠道炎症疾病, 中医学中属于“泄泻”“痢疾”

收稿日期: 2020-05-02
基金项目: 省级中药炮制技术传承基地项目 (2020)
作者简介: 刘 悦 (1994—), 女, 硕士生, 从事中药炮制原理研究。Tel: 18242026866, E-mail: 18242026866@163.com
* 通信作者: 高 慧 (1974—), 女, 博士, 教授, 从事中药炮制原理研究。Tel: (0411) 85890146, E-mail: gaohuitem@163.com