

文章编号:2095-7386(2022)02-0026-07

DOI:10.3969/j.issn.2095-7386.2022.02.005

## 姜黄素通过 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路减轻 LPS/D-GalN 诱导的小鼠急性肝损伤

桂 颖,雷 欢,邓 琴,刘子源,徐凌云  
(武汉轻工大学 生命科学与技术学院,武汉 430023)

**摘 要:**探究姜黄素减轻脂多糖(LPS)/D-氨基半乳糖(D-GalN)诱导小鼠急性肝损伤的作用及其机制。姜黄素(50~200 mg/kg)预防给药 10 d 后,一次性腹腔注射 LPS/D-GalN 诱导急性肝损伤,测定小鼠血清谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)水平及肝脏乳酸脱氢酶(LDH)、一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)水平,HE 染色观察肝脏病理组织变化,western blot 检测小鼠肝组织 TLR4、NLRP3、NF- $\kappa$ B、ASC、CASP1、IL-1 $\beta$  及 IL-18 蛋白的表达水平;qPCR 检测肝脏 TLR4、NLRP3、CASP1、IL-1 $\beta$  mRNA 的表达水平。结果显示:与模型组相比,姜黄素降低小鼠血清 AST、ALT 水平,缓解肝脏氧化应激损伤,显著减轻小鼠肝组织病理学损伤;降低肝 TLR4、NF- $\kappa$ B p65、NLRP3、CASP1、IL-1 $\beta$  及 IL-18 蛋白水平,并下调 TLR4、NLRP3、CASP1、IL-1 $\beta$  mRNA 的表达水平。姜黄素可通过下调 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路,发挥抗氧化、抗炎作用,抑制细胞焦亡,减轻 LPS/D-GalN 所致的小鼠肝损伤。

**关键词:**姜黄素;急性肝损伤;脂多糖;NLRP3 炎症小体;焦亡

中图分类号:R 965

文献标识码:A

## Curcumin alleviates LPS/D-GalN induced acute liver injury via TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 signaling pathway in mice

GUI Ying, LEI Huan, DENG Qin, LIU Zi-Yuan, XU Ling-Yun

(School of Life Science and Technology, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

**Abstract:** Investigate the effect and mechanism of curcumin in alleviating LPS/D-GalN induced acute liver injury in mice. With curcumin (50–200 mg/kg) preventive administration for 10d, mice were injected intraperitoneally with LPS/D-GalN to induce acute liver injury. After 6h, the mice were weighed and blood was taken. The levels of serum aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) and liver lactate dehydrogenase (LDH), nitric oxide (no), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were measured by the kit. The pathological changes of liver were observed by HE staining. The expression of TLR4, NF- $\kappa$ B, NLRP3, NF- $\kappa$ B, ASC, CASP1, IL-1 $\beta$  and IL-18 protein were detected by Western blot. The mRNA levels of TLR4, NLRP3, CASP1 and IL-1 $\beta$  in liver were detected by qPCR. Compared with the model group, curcumin decreased the levels of AST and ALT, alleviated liver oxidative stress injury, and mitigated liver histopathological damage in mice, the protein levels

收稿日期:2022-03-23.

作者简介:桂颖(1996-),女,硕士研究生,E-mail:1533041168@qq.com.

通信作者:徐凌云(1967-),女,博士,教授,E-mail:doctordly9898@163.com.

of TLR4, NF- $\kappa$ B p65, NLRP3, CASP1, IL-1 $\beta$  and IL-18 were decreased, and the mRNA levels of TLR4, NLRP3, CASP1, and IL-1 $\beta$  were down regulated. Curcumin exert antioxidative, anti-inflammatory, and inhibit pyroptosis effects by down-regulating TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 signaling pathway, and alleviate liver injury induced by LPS/D-GalN in mice.

**Key words:** curcumin; acute liver injury; lipopolysaccharide; NLRP3 inflammation; pyroptosis

## 1 引言

肝脏由肝细胞和非肝细胞组成,非肝细胞中包括大量免疫相关细胞,包括枯否细胞(Kupffer cells)、T 淋巴细胞、自然杀伤细胞(Natural Killer cells)等<sup>[1]</sup>。肝巨噬细胞由枯否细胞和单核巨噬细胞组成,肝脏损伤时,大量枯否细胞和单核巨噬细胞被激活,产生大量炎症因子,因此肝脏损伤常伴有机体炎症反应<sup>[2]</sup>。姜黄素(Curcumin, Cur)是中药姜黄的主要活性成分,具有广泛的药理学作用,研究证实姜黄素具有良好的体内外抗炎活性,可在多种炎症疾病中发挥治疗效果<sup>[3]</sup>。脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)是革兰氏阴性细菌细胞壁外壁的组成成分,在肝脏组织中 LPS 与其结合蛋白结合成复合物,通过激活细胞膜中的 Toll 样受体 4(Toll like receptor 4, TLR4)释放炎症因子,从而使肝细胞发生凋亡与坏死<sup>[4]</sup>。D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-GalN)通过干扰肝细胞磷酸尿嘧啶核苷的代谢使尿苷三磷酸(UTP)耗竭从而阻止尿苷类化合物环化最终导致肝细胞死亡;同时  $\text{Ca}^{2+}$  内流抑制线粒体功能加速自由基产生使肝损伤加剧<sup>[5]</sup>。LPS 和 D-GalN 协同作用可导致动物的肝细胞在短时间内大量死亡和肝脏生理功能严重受损<sup>[6]</sup>,是一种稳定且可重复的肝损伤造模方案。各项研究证实姜黄素可通过多种通路发挥护肝作用<sup>[7,8]</sup>,但姜黄素能否通过调节 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 相关炎症通路减缓 LPS/D-GalN 所致肝损伤尚不明确。在本文中通过腹腔注射 LPS 和 D-GalN 建立肝损伤炎症模型并探究姜黄素在 LPS/D-GalN 致急性肝损伤中的抗炎作用机制,为姜黄素应用于肝脏疾病的抗炎治疗提供实验依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 动物

雄性 ICR 种小鼠,18~22 g,购买于华中科技大学同济医学院实验动物中心,动物合格证号为:SCXK(鄂)2020-0018。保持室内温度 22℃,室内

昼夜自然明暗交替照明,自由摄取食物和水,实验前适应性喂养 3 d。本实验方案经由武汉轻工大学实验动物伦理委员会审批(批号:WPU202109001),符合实验室动物管理与使用准则。

### 2.2 药品与试剂

姜黄素(Curcumin, Cur, 纯度 $\geq 98\%$ ),由武汉回盛生物科技有限公司提供;脂多糖(LPS, Escherichia coli; 055:B5),购于美国 sigma 公司;D-氨基半乳糖盐酸盐(D-GalN, 纯度 $\geq 98\%$ )购于碧云天生物科技有限公司;联苯双酯(Bifendate, 纯度 $> 98\%$ ),购于上海源叶生物科技有限公司;谷草转氨酶试剂盒(AST)、谷丙转氨酶试剂盒(ALT)、丙二醛试剂盒(MDA)、超氧化物歧化酶试剂盒(SOD)及考马斯亮蓝试剂盒(TP)购于南京建成生物研究所;抗 TLR4、P65、NLRP3、ASC、CASP1、IL-1 $\beta$ 、IL-18 及  $\beta$ -actin 抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗均购于武汉三鹰科技有限公司;BCA 蛋白定量试剂增强化学 ECL 试剂盒均购于碧云天生物科技有限公司;RNAiso Plus、q-PCR 反转录试剂盒、q-PCR 上机试剂盒均购于日本 TaKaRa 公司。

### 2.3 仪器

可调高速匀浆机(金坛市医疗仪器厂,型号:FSH-2A),光学显微镜(日本 Nikon 公司,型号:80i),电泳仪电源(北京六一生物科技有限公司,型号:DYY-8C),迷你双垂直电泳仪(北京六一生物科技有限公司,型号:DYCZ-24DN),四板转印电泳槽(北京六一生物科技有限公司,型号:DYCZ-40S),脱色摇床(北京六一生物科技有限公司,型号:WD-9405F)凝胶成像分析系统(美国 BIO-RAD 公司,型号:ChemiDoc™ XRS+),荧光定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司,型号:CFX96)。

### 2.4 方法

#### 2.4.1 动物分组及给药

60 只健康雄性 ICR 小鼠随机分为 6 组,每组 10 只,即:空白组、模型组、姜黄素低剂量组(50 mg/kg)、姜黄素中剂量组(100 mg/kg)、姜黄素高剂量组(200 mg/kg)、阳性药联苯双酯组(150 mg/kg)。姜

黄素各剂量组及阳性药组每天灌胃对应剂量的药物,连续给药 10 d,正常组及模型组每天灌胃药物溶媒(0.5% CMC-Na)连续 10 d。第 10 d 灌胃给药结束后 2 h,除正常组外,其余各组一次性腹腔注射 0.01 mg/kg LPS + 700 mg/kg D-GalN,建立急性肝损伤模型,正常组腹腔注射等体积生理盐水,各组给药容积均为 0.1 mL/10 g。

#### 2.4.2 小鼠血清 AST、ALT 水平测定

造模后小鼠眼后静脉丛取血,血液静置过夜后于 3 000 r/min,4 ℃ 条件下离心 10 min,取上清液即为血清,根据试剂盒说明书测定血清中 AST、ALT 活力。

#### 2.4.3 小鼠肝脏 LDH、NO、SOD、MDA 水平测定

取小鼠肝组织,在冰浴条件下机械匀浆,制备成 10% 的肝脏匀浆液。3 500 r/min,4 ℃ 条件下离心 10 min,取上清液,根据试剂盒说明书测定小鼠肝脏 LDH、NO、SOD 及 MDA 水平。

#### 2.4.4 小鼠肝脏系数的测定

小鼠取血后,颈椎脱臼处死小鼠,解剖取小鼠肝脏,使用电子分析天平称取脏器质量,以肝脏质量(mg)和小鼠体重(g)的比值作为小鼠肝脏系数。

#### 2.4.5 小鼠肝组织病理学检查

取小鼠部分肝组织固定于 4% 多聚甲醛 24 h 以上,制作组织包埋石蜡切片。石蜡切片脱蜡后将其分别放入 Harris 苏木素和伊红染液中,最后将切片脱水至切片透明,使用中性树脂对切片进行封片。用光学显微镜观察切片并进行图像采集。

#### 2.4.6 Western blot 法测定小鼠肝组织蛋白表达

每组随机取三只小鼠肝脏共 1.0 g 加入 0.75 mL 裂解液,在冰浴下机械匀浆。充分匀浆后置于 4 ℃ 继续裂解 2 h。12 000 r/min,4 ℃,离心 5 min,取上清液,即为全蛋白提取物。使用蛋白印迹方法检测各组小鼠肝组织中 TLR4、P65、NLRP3、ASC、CASP1、IL-18、IL-1 $\beta$  的表达水平,使用 Image J 软件计算相关蛋白灰度值及相对于  $\beta$ -actin 的表达量。

#### 2.4.7 qPCR 法检测肝组织 TLR4、NLRP3、CASP1 和 IL-1 $\beta$ mRNA 表达水平

每组随机取三只小鼠肝脏共 0.7 g 加入 1 mL 总 RNA 抽提试剂,冰上匀浆后提取组织 RNA,按照试剂盒说明书逆转录为 cDNA 后上机进行实验。引物序列如下:TLR4 上游引物:5' - GCTTGAATC-CCTGCATAGAGGT - 3',下游引物:5' - TCT-TCAAGGGGTTGAAGCTCAG - 3'; NLRP3 上游引物:5' - GTACCCAAGGCTGCTATCTGG - 3',下游引

物:5' - GGACACTCGTCATCTTCAGCA - 3'; CASP1 上游引物:5' - ACTGACTGGGACCCTCAAGT - 3',下游引物:GCAAGACGTGTACGAGTGGT; IL-1 $\beta$  上游引物:5' - TGCCACCTTTTGACAGTGATG - 3',下游引物:5' - TGTGCTGCTGCGAGATTGA - 3'。

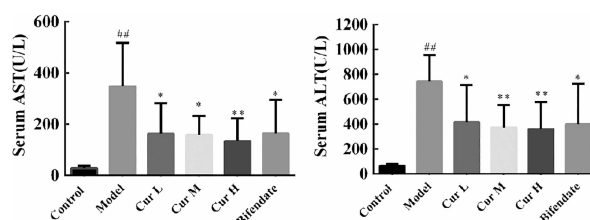
### 2.5 统计学分析

采用 Graphpad Prism 对实验数据进行统计学分析并绘图,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用独立样本  $t$  检验比较组间数据存在的差异,以  $P < 0.05$  表示结果具有统计学差异。

## 3 结果

### 3.1 姜黄素对小鼠 AST、ALT 水平的影响

如图 1 所示,与空白组相比,模型组小鼠血清 AST、ALT 水平极显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组相比,姜黄素低、中、高剂量组小鼠血清 AST、ALT 水平降低,差异具有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),联苯双酯组小鼠血清 AST、ALT 水平显著降低( $P < 0.05$ );结果表明,腹腔注射 0.01 mg/kg LPS + 700 mg/kg D-GalN 6 h 后,成功建立小鼠肝损伤模型,联苯双酯显著降低 LPS/D-GalN 造模所致的血清 ALT、AST 水平升高,姜黄素对 LPS/D-GalN 所致肝损伤具有保护作用且呈现一定的剂量依赖性。

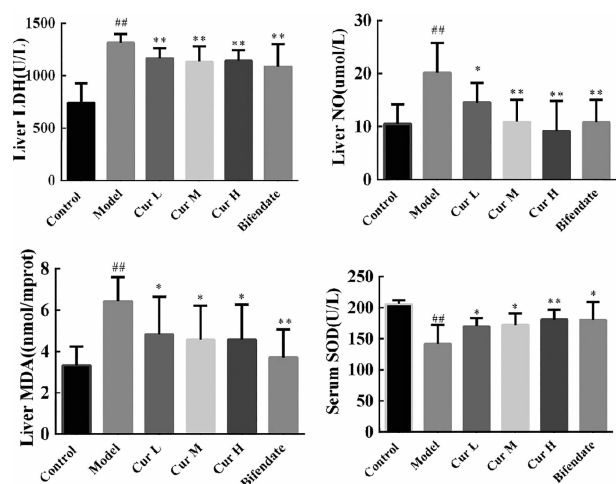


与空白组相比, <sup>##</sup>:  $P < 0.01$ ; 与模型组相比, <sup>\*</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup>:  $P < 0.01$

图 1 姜黄素对 LPS/D-GalN 致肝损伤小鼠血清生化水平的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

### 3.2 姜黄素对小鼠肝组织 LDH、NO、MDA、SOD 的影响

如图 2 所示,与空白组相比,腹腔注射 LPS/D-GalN 后,小鼠肝脏 LDH、NO 及 MDA 水平极显著升高,SOD 水平极显著降低( $P < 0.01$ )。与模型组相比,灌胃给予姜黄素低、中、高剂量后小鼠肝脏 LDH、NO 水平显著降低;MDA 水平显著降低的同时 SOD 水平显著升高。结果表明,腹腔注射 0.01 mg/kg LPS + 700 mg/kg D-GalN 6 h 后小鼠肝脏发生氧化应激及炎症损伤,姜黄素显著减轻 LPS/D-GalN 所致小鼠肝脏损伤。



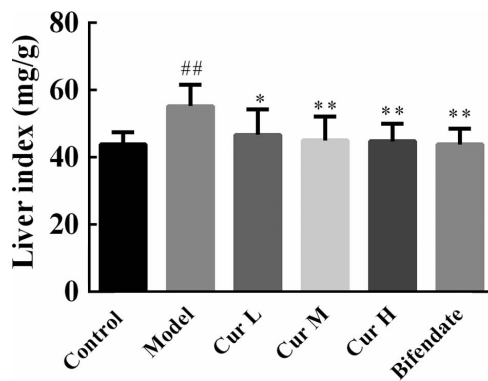
与空白组相比, <sup>##</sup>:  $P < 0.01$ ;

与模型组相比, <sup>\*</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup>:  $P < 0.01$

图2 姜黄素对 LPS/D-GalN 致肝损伤小鼠肝脏 LDH、NO、MDA、SOD 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

### 3.3 姜黄素对小鼠肝脏系数的影响

如图3所示,与空白组相比,模型组小鼠肝脏系数极显著增加( $P < 0.01$ );与模型组相比,低剂量姜黄素组的肝脏系数显著降低( $P < 0.05$ ),姜黄素中、高剂量组及阳性对照组小鼠的肝脏系数极显著降低( $P < 0.01$ )。以上结果说明一次性腹腔注射 0.01 mg/kg LPS + 700 mg/kg D-GalN 6 h 后小鼠肝损伤明显,造模前给予姜黄素对肝脏有一定的保护作用。



与空白组相比, <sup>##</sup>:  $P < 0.01$ ;与模型组相比, <sup>\*</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup>:  $P < 0.01$

图3 姜黄素对 LPS/D-GalN 致肝损伤小鼠肝脏系数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

### 3.4 姜黄素对急性肝损伤小鼠肝脏组织病理的影响

如图4所示,空白组小鼠肝组织切片肝小叶结构清晰正常,肝索呈放射状排列,无紊乱现象,无充血和炎性细胞浸润,肝细胞边界清晰,具有完整的细胞边缘和正常的细胞核。模型组小鼠肝实质失去正常结构,肝小叶已分辨不清,肝索排列紊乱,大量炎性细胞浸润。相较于模型组,姜黄素各剂量组坏死病灶减少,肝小叶、肝索结构紊乱有所恢复,肝细胞空泡化减少,淤血现象减少,炎性细胞浸润较少;联苯双酯组坏死病变明显减轻,肝小叶、肝索基本恢复正常结构,肝细胞空泡化减少,淤血现象减少。

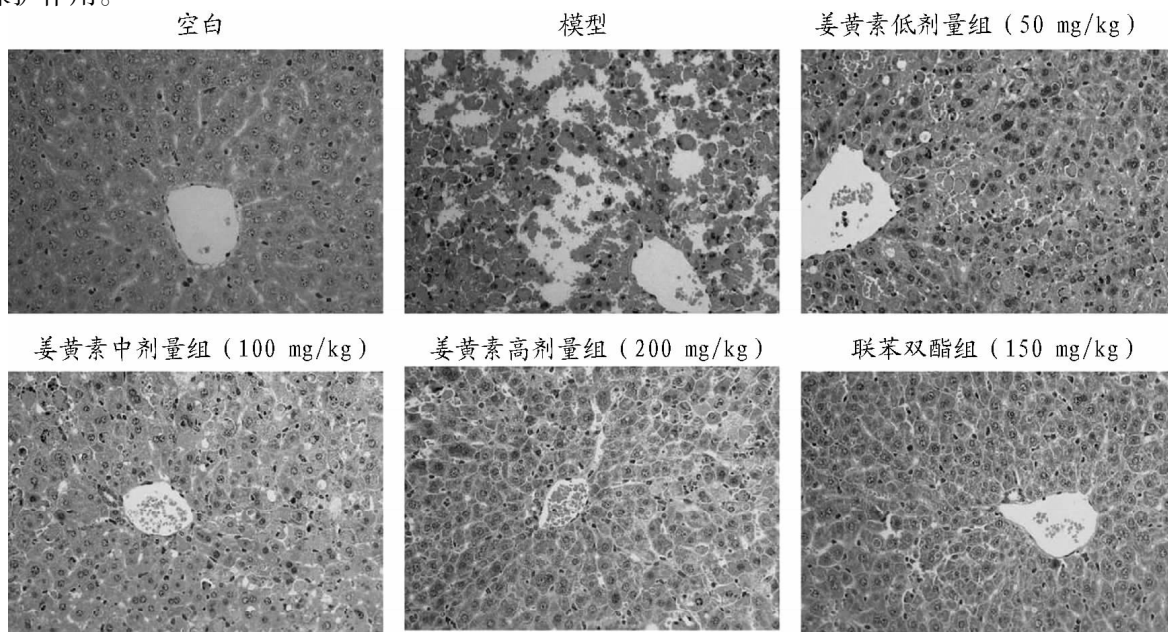


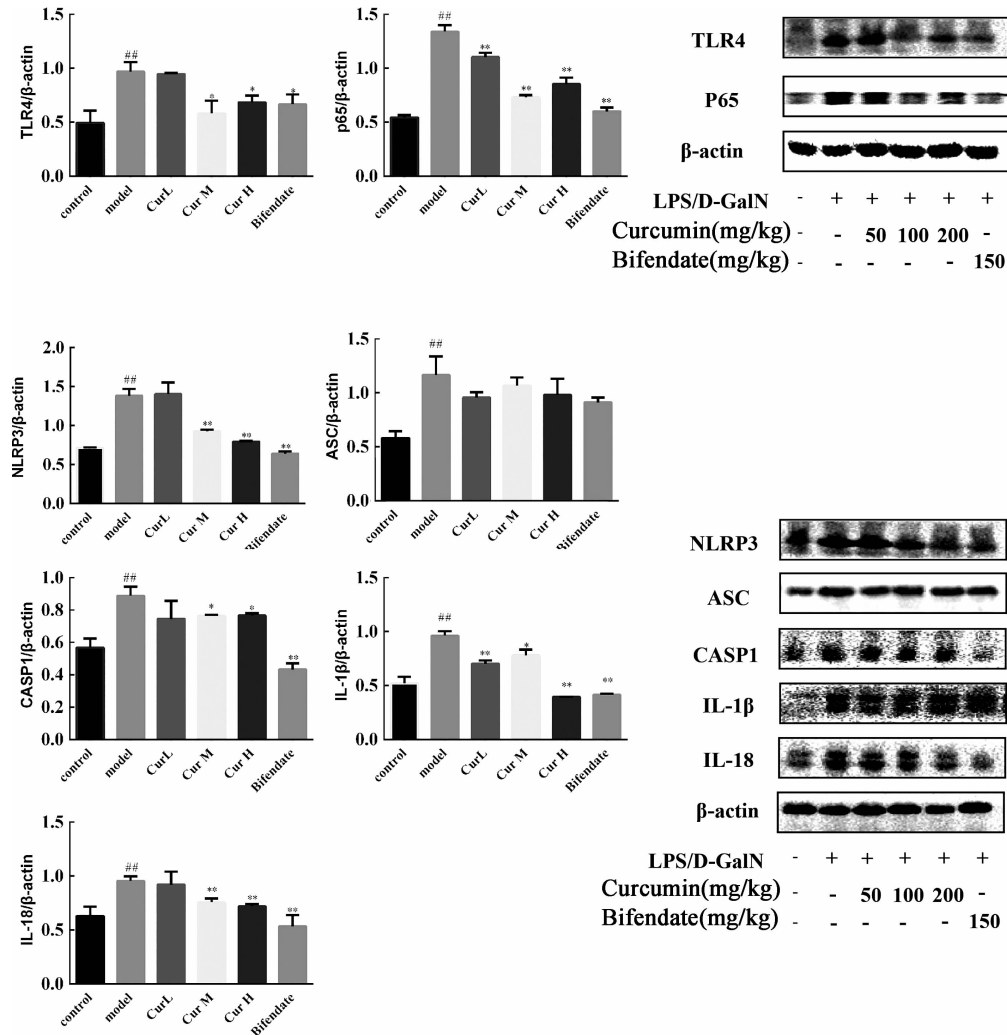
图4 姜黄素对急性肝损伤小鼠肝脏组织形态的影响 ( $\times 400$ )

### 3.5 姜黄素对 LPS/D-GalN 致急性肝损伤

#### TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路的影响

如图 5 所示,与空白组相比,模型组小鼠肝组织中 TLR4、p65、NLRP3、ASC、CASP1、IL-1 $\beta$  和 IL-18 蛋白表达极显著增强( $P < 0.01$ )。说明腹腔注射 LPS/D-GalN 后,模型组小鼠肝脏 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路被激活。与模型组相比,姜黄素低剂量组

ASC 和 CASP1 水平极显著降低( $P < 0.01$ );姜黄素中、高剂量组小鼠肝脏 TLR4、NLRP3、CASP1、p65 和 IL-18 蛋白的表达极显著降低( $P < 0.01$ );阳性对照药联苯双酯极显著降低 TLR4、NLRP3、CASP1、p65 和 IL-18 蛋白的表达( $P < 0.01$ )。以上结果说明姜黄素可通过抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路的激活预防 LPS/D-GalN 导致的肝损伤。



与空白组相比,  $^{##}$ :  $P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $^{*}$ :  $P < 0.05$ ,  $^{**}$ :  $P < 0.01$

图 5 姜黄素对急性肝损伤小鼠肝脏 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

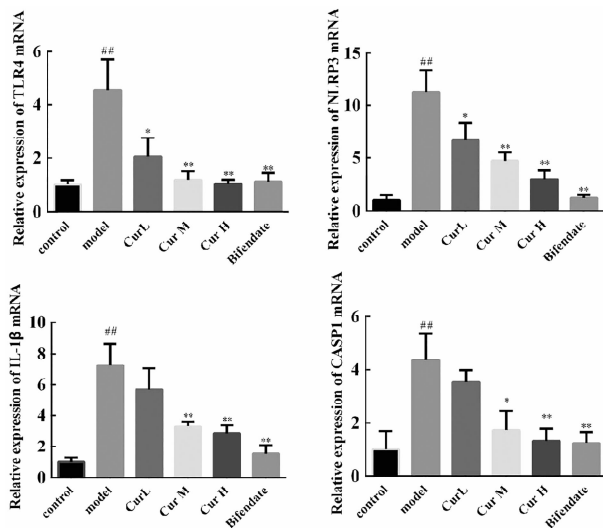
### 3.6 姜黄素对急性肝损伤小鼠 TLR4、NLRP3、CASP1 和 IL-1 $\beta$ mRNA 水平的影响

如图 6 所示,姜黄素可显著抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 途径相关 mRNA 的表达。与空白组相比,模型组小鼠肝脏 TLR4、NLRP3、CASP1 和 IL-1 $\beta$  的 mRNA 水平均极显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组相比,姜黄素低剂量组小鼠肝脏 CASP1 和 IL-1 $\beta$  的 mRNA 水平有降低趋势,TLR4、NLRP3 的 mRNA 水平显著降低( $P < 0.05$ );姜黄素中、高剂量组及阳性

对照组小鼠肝脏 TLR4、NLRP3、CASP1 和 IL-1 $\beta$  的 mRNA 水平均极显著降低( $P < 0.01$ )。

## 4 讨论

不同类型的肝损伤均伴有强烈的炎症反应,炎症导致的肝细胞死亡是肝病进展中的关键事件。肝损伤时细胞死亡受体(DR)和模式识别受体(PRR)受到刺激,Toll 样受体(TLRs)被识别产生受体互作蛋白激酶 1(RIPK1),E3 泛素连接酶细胞凋亡抑制



与空白组相比, <sup>##</sup>:  $P < 0.01$ ;

与模型组相比, <sup>\*</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup>:  $P < 0.01$

图6 姜黄素对急性肝损伤小鼠肝脏 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路 mRNA 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

剂(cIAP)催化 RIPK1 多泛素化促进 NF- $\kappa$ B 途径的激活<sup>[9]</sup>。同时 TLRs 诱导炎症小体的形成, NLRP3 炎症小体可激活 pro caspase-1 随后将 IL-1 $\beta$  和 IL-18 由前体形式转化为成熟形式,这一过程中肝细胞发生焦亡<sup>[10]</sup>。炎症小体由胞内受体 NLRP3、ACS 凋亡相关斑点样蛋白和效应蛋白酶 caspase-1 组成, NLRP3 激活后释放 IL-1 $\beta$ 、IL-18、高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 和前列腺素,诱导炎症和细胞焦亡,炎症小体的激活与多种炎症性疾病有关<sup>[11]</sup>,也是肝脏炎症性损伤的重要病理机制之一<sup>[12]</sup>。LPS 作为革兰氏阴性菌内毒素可激活 TLRs 并通过 NF- $\kappa$ B 信号通路上调相关炎症因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的表达。NF- $\kappa$ B 作为蛋白复合物调控多种基因的转录并参与细胞自由基、活性氧和细胞因子等的调节<sup>[13]</sup>。细胞焦亡由细胞内外刺激激活,如细菌、病毒、毒素和化疗药物并引起炎症,焦亡(Pyroptosis)同细胞凋亡一样具有 DNA 损伤、核固缩及半胱天冬酶依赖性的特征,不同的是焦亡细胞肿胀,在细胞膜破裂前,膜表面出现大量气泡状突起<sup>[14]</sup>。作为细胞的一种程序性死亡,其经典途径主要涉及炎症小体, NLRP3 和 ASC 激活 CASP1, CASP1 切割 GSDMD 导致细胞焦亡,同时释放炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-18<sup>[15]</sup>。焦亡的非经典途径可直接由 LPS 激活, LPS 与 CASP4、5 和 11 结合后 CASP1 和 CASP-11/4/5 切割 GSDMD,释放的 gasdermin-N 结构域与磷脂酰肌醇结合并寡聚成孔膜导致细胞肿胀并最终溶解<sup>[16]</sup>。

姜黄素可显著抑制 NLRP3 小体的激活,防止葡聚糖硫酸钠诱导的  $K^+$  外排、细胞内活性氧形成并显著抑制多种炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 的表达及 CASP1 活性,由此减轻葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎<sup>[17]</sup>; Chen 等人的研究发现小鼠灌胃给予 20 mg/kg 或 40 mg/kg 姜黄素后,血清 IL-1 $\beta$  和 IL-18 水平降低并抑制了肾脏中 NLRP3 炎症体信号传导的激活而表现出抗高尿酸血症和抗炎作用<sup>[18]</sup>。姜黄素可下调 LPS 介导的小胶质细胞中 TLR4 的表达由此减轻神经炎症<sup>[19]</sup>;姜黄素可通过下调 NF- $\kappa$ B 通路中 JNK 的水平来降低肾组织中 PVT1 的表达由此减轻 LPS 诱导的小鼠肾损伤<sup>[20]</sup>; Yi 等人的研究发现姜黄素通过抑制 NLRP3 炎症小体来抑制 CASP1 和 IL-1 $\beta$  的激活和分泌从而防止了高脂饮食诱导的胰岛素抵抗<sup>[21]</sup>。

姜黄素的保肝作用也已得到广泛证实。100 mg/kg 姜黄素可降低高迁移率蛋白 1 的细胞质易位和 TLR4 蛋白的表达并减弱 NF- $\kappa$ B 的核易位改善小鼠非酒精性脂肪性肝炎<sup>[22]</sup>。姜黄素(50、100 mg/kg)通过激活 Nrf 通路减轻奥沙利铂引起的肝损伤,抑制小鼠肝脏氧化应激及炎症反应<sup>[23]</sup>。Wu 等人发现姜黄素(50、100、200 mg/Kg)在体内外逆转四氯化碳所致肝纤维化<sup>[24]</sup>。LPS 作为病原体相关模式分子被 TLRs 识别后激活体内炎症反应<sup>[4]</sup>, D-GalN 抑制肝细胞 mRNA 翻译使得肝坏死, LPS 和 D-GalN 联合使用可诱导急性肝损伤<sup>[25]</sup>。Xie 等人的研究发现姜黄素(30、60、120 mg/kg)以剂量依赖性上调 HO-1 等 Nrf2 依赖性抗氧化基因的表达减轻 LPS/D-GalN 所致大鼠肝损伤<sup>[26]</sup>。本研究结果显示,姜黄素预防给药能显著减轻 LPS/D-GalN 诱导的小鼠急性肝损伤。

综上所述,本研究结果显示,姜黄素能减轻 LPS/D-GalN 诱导的小鼠急性肝损伤,降低小鼠血清转氨酶水平,抑制肝脏 LDH、NO、MDA 水平并提高 SOD 水平,减轻肝脏病理损伤,以上作用伴随 TLR4、NF- $\kappa$ B 蛋白及焦亡相关蛋白 NLRP3、CASP1 的下调,姜黄素在细胞焦亡的过程对 GSDMD 蛋白的影响还需进一步研究,目前的研究结果说明姜黄素可通过抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路来抑制炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-18 的产生减少 LPS/D-GalN 所致肝细胞焦亡由此发挥肝脏保护作用。

#### 参考文献:

- [1] 李可英,刘英,周永芹. 自身免疫性肝炎的相关免疫病理机制[J]. 生命的化学,2018,38,

- (04):534-542.
- [2] Shan Z, Ju C. Hepatic macrophages in liver injury [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:322.
- [3] Tasneem S, Liu B, Li B, *et al.* Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 139:126-140.
- [4] Ciesielska A, Matyjek M, Kwiatkowska K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(4):1233-1261.
- [5] 董丽萍, 于锋, 柳静, 等. 异甘草酸镁对 D-氨基半乳糖急性肝损伤模型小鼠的保护作用研究 [J]. *中国药房*, 2006, 12:902-904.
- [6] Zhang Y, Jia H, Jin Y, *et al.* Glycine attenuates LPS-induced apoptosis and inflammatory cell infiltration in mouse liver [J]. *J Nutr*, 2020, 150(5):1116-1125.
- [7] Wang X, Chang X, Zhan H, *et al.* Curcumin and baicalin ameliorate ethanol-induced liver oxidative damage via the Nrf2/HO-1 pathway [J]. *J Food Biochem*, 2020, e13425.
- [8] Kong D, Zhang Z, Chen L, *et al.* Curcumin blunts epithelial-mesenchymal transition of hepatocytes to alleviate hepatic fibrosis through regulating oxidative stress and autophagy [J]. *Redox Biol*, 2020, 36:101600.
- [9] Ashkenazi A, Salvesen G. Regulated cell death: Signaling and mechanisms [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30:337-356.
- [10] He W-T, Wan H, Hu L, *et al.* Gasdermin d is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 $\beta$  secretion [J]. *Cell Res*, 2015, 25(12):1285-1298.
- [11] Mangan M S J, Olhava E J, Roush W R, *et al.* Targeting the nlrp3 inflammasome in inflammatory diseases [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(8):588-606.
- [12] Tao Y, Wang N, Qiu T, *et al.* The role of autophagy and nlrp3 inflammasome in liver fibrosis [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:7269150.
- [13] Moniruzzaman M, Ghosal I, Das D, *et al.* Melatonin ameliorates ho-induced oxidative stress through modulation of Erk/Akt/NF $\kappa$ B pathway [J]. *Biol Res*, 2018, 51(1):17.
- [14] Yu P, Zhang X, Liu N, *et al.* Pyroptosis: Mechanisms and diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1):128.
- [15] Orning P, Lien E, Fitzgerald K A. Gasdermins and their role in immunity and inflammation [J]. *J Exp Med*, 2019, 216(11):2453-2465.
- [16] Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-mediated programmed necrotic cell death [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(4):245-254.
- [17] Gong Z, Zhao S, Zhou J, *et al.* Curcumin alleviates DSS-induced colitis via inhibiting nlrp3 inflammasome activation and IL-1 $\beta$  production [J]. *Mol Immunol*, 2018, 104:11-19.
- [18] Chen Y, Li C, Duan S, *et al.* Curcumin attenuates potassium oxonate-induced hyperuricemia and kidney inflammation in mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118:109195.
- [19] Zhang J, Zheng Y, Luo Y, *et al.* Curcumin inhibits LPS-induced neuroinflammation by promoting microglial m2 polarization via TREM2/TLR4/NF- $\kappa$ B pathways in BV2 cells [J]. *Mol Immunol*, 2019, 116:29-37.
- [20] Huang W, Li X, Wang D, *et al.* Curcumin reduces LPS-induced septic acute kidney injury through suppression of lncrna pvt1 in mice [J]. *Life Sci*, 2020, 254:117340.
- [21] Yin H, Guo Q, Li X, *et al.* Curcumin suppresses IL-1 $\beta$  secretion and prevents inflammation through inhibition of the NLRP3 inflammasome [J]. *J Immunol*, 2018, 200(8):2835-2846.
- [22] Afrin R, Arumugam S, Rahman A, *et al.* Curcumin ameliorates liver damage and progression of NASH in NASH-HCC mouse model possibly by modulating HMGB1-NF- $\kappa$ B translocation [J]. *Int Immunopharmacol*. 2017, 44:174-182.
- [23] Lu Y, Wu S, Xiang B, *et al.* Curcumin attenuates oxaliplatin-induced liver injury and oxidative stress by activating the Nrf2 pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14:73-85.

(下转第 37 页)

- 57-67.
- [3] 邢陈,宋伦.昼夜节律在调控免疫系统功能中的作用[J].军事医学,2017,41(03):233-236.
- [4] 杨红莲,刘焕亮,余晓俊,等.昼夜节律紊乱对免疫系统的影响[C]//中国生理学会.2019中国生理学会学术年会暨张锡钧基金第十五届全国青年优秀生理学学术论文交流会及第十三届全国青年生理学工作者学术会议论文摘要.中国生理学会,2019:437.
- [5] 姜洪池,周孟华.脾脏外科临床研究进展与展望[J].中国实用外科杂志,2020,40(01):53-57+61.
- [6] 王庆敏,李科华,唐瑛,等.生物钟基因 *bmal1* 与 *per1* 在小鼠胸腺、脾脏及外周血中表达的近日节律性研究[J].华南国防医学杂志,2019,33(04):228-231.
- [7] 阮梦成. *Per1/Per2* 双敲除对正常与高脂饲喂小鼠肠道菌群昼夜节律影响[D].武汉:武汉轻工大学,2020.
- [8] Feng H, Schorpp K, Jin J, et al. Transferrin receptor is a specific ferroptosis marker[J]. Cell Rep. 2020,30(10):3411-3423. e7.
- [9] 徐杉,闵军霞,王福娣.铁死亡:免疫细胞及免疫治疗中的璀璨新星(英文)[J]. Science Bulletin, 2021,66(22):2257-2260.
- [10] Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of non-apoptotic cell death[J]. Cell, 2012,149(5):1060-1072.
- [11] Yagoda N, Von Rechenberg M, Zaganjor E, et al. RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels[J]. Nature. 2007,447(7146):864-868.
- [12] Angeli J P F, Schneider M, Proneth B, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator *gpx4* triggers acute renal failure in mice[J]. Nat Cell Biol. 2012,4,16(12):1180-1191.
- [13] Yang W S, Sriramaratnam R, Welsch M E, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by *gpx4*[J]. cell, 2014,156(1-2):317-331.
- [14] Bridges R J, Natale N R, Patel S A. System Xc-cystine/glutamate antiporter. an update on molecular pharmacology and roles within the CNS[J]. Br J Pharmacol, 2012,165(1):20-34.
- [15] Muri J, Thut H, Bornkamm GW, et al. B1 and marginal zone B cells but not follicular B2 cells require GPX4 to prevent lipid peroxidation and ferroptosis[J]. Cell Rep 2019,29:2731 - 44.
- [16] Jung Hoon Woo, Yishai Shimoni, Wan Seok Yang, et al. Elucidating Compound Mechanism of Action by Network Perturbation Analysis[J]. Cell. 2015,162(2):441-451.
- [17] Liu J, Yang M, Kang R, Klionsky DJ, et al. Autophagic degradation of the circadian clock regulator promotes ferroptosis[J]. Autophagy. 2019,15(11):2033-2035.

(上接第 32 页)

- [24] Wu P, Huang R, Xiong YL, et al. Protective effects of curcumin against liver fibrosis through modulating DNA methylation[J]. Chin J Nat Med. 2016,14(4):255-264.
- [25] 安晓敏,凯赛尔·托呼提,张翠丽,等.二烯丙基二硫对 D-氨基半乳糖/脂多糖所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J].毒理学杂志,2021,35(02):135-139.
- [26] Xie YL, Chu JG, Jian XM, et al. Curcumin attenuates lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury by activating Nrf2 nuclear translocation and inhibiting NF- $\kappa$ B activation[J]. Biomed Pharmacother, 2017,91:70-77.