

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.10.005

## 滨蒿内酯对胆总管结扎大鼠 FXR/BSEP 信号通路及肝内胆汁淤积的影响\*

胡耀元, 李 朗, 丁华强, 陈 乐

(浙江中医药大学第三临床医学院, 杭州 310000)

**[摘要]** **目的** 探讨滨蒿内酯对胆总管结扎大鼠法尼醇 X 受体(FXR)/胆盐输出泵(BSEP)信号通路及肝内胆汁淤积的影响。**方法** SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、滨蒿内酯低剂量组(25 mg/kg)、滨蒿内酯中剂量组(50 mg/kg)、滨蒿内酯高剂量组(100 mg/kg)、熊去氧胆酸组(60 mg/kg), 每组 12 只, 除假手术组外, 其余各组大鼠结扎胆总管建立肝内胆汁淤积模型, 分组给予相应药物处理后, 检测肝功能指标血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)水平、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)水平; 以苏木素-伊红(HE)检测各组大鼠肝组织病理变化; 以 Masson 染色检测大鼠肝组织纤维化程度; 以酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒检测大鼠血清肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6(IL-6)及转化生长因子  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)水平, 以 Western blot 检测肝组织中 FXR/BSEP 通路蛋白表达。**结果** 与假手术组相比, 模型组大鼠肝组织呈现肝索排列紊乱, 肝小叶结构受损, 肝细胞坏死, 有大量炎症细胞浸润等病理损伤, 且出现大量胶原沉积, 呈现纤维化变性, 血清 ALT、AST、TBIL、DBIL、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 及 IL-6 水平明显升高( $P < 0.05$ ), 肝组织 FXR、BSEP 蛋白表达明显降低( $P < 0.05$ )。与模型组相比, 滨蒿内酯低、中、高剂量组、熊去氧胆酸组大鼠肝组织病理损伤及纤维化程度减轻, 血清 ALT、AST、TBIL、DBIL、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 及 IL-6 水平降低( $P < 0.05$ ), 肝组织 FXR、BSEP 蛋白表达升高( $P < 0.05$ ), 滨蒿内酯各剂量组呈剂量依赖性, 滨蒿内酯高剂量组与熊去氧胆酸组相比, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 滨蒿内酯可阻止胆总管结扎大鼠肝组织炎症发生, 缓解其纤维化进展, 改善肝内胆汁淤积症状, 增强肝功能, 可能是通过 FXR/BSEP 通路实现的。

**[关键词]** 胆汁淤积, 肝内; 滨蒿内酯; FXR/BSEP; 胆总管结扎

**[中图法分类号]** R657.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)10-1570-05

## Effects of Scoparone on FXR/BSEP signaling pathway and intrahepatic cholestasis in rats with common bile duct ligation\*

HU Yaoyuan, LI Lang, DING Huaqiang, CHEN Le

(the Third Clinical Medical College of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of Scoparone on the signaling pathway of farnesoid X receptor (FXR)/bile salt export pump (BSEP) and intrahepatic cholestasis in rats with common bile duct ligation. **Methods** SD rats were randomly divided into the sham group, the model group, the low-dose Scoparone group (25 mg/kg), the medium-dose Scoparone group (50 mg/kg), the high-dose Scoparone group (100 mg/kg), the ursodeoxycholic acid group (60 mg/kg), with 12 rats in each group. Except for the sham group, rats in other groups were ligated to establish intrahepatic cholestasis model, the rats were treated with corresponding drugs. The levels of serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL), and direct bilirubin (DBIL) were measured. Hematoxylin eosin staining (HE) was used to detect the pathological changes of liver tissue. The degree of hepatic fibrosis was detected by Masson staining. The levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and TGF- $\beta$ 1 in serum of rats were detected by ELISA, and the expression of FXR/BSEP pathway protein in liver tissue was detected by Western blot. **Results** Compared with the sham group, the liver tissue of the model group showed disorder of liver cord arrangement, damage of liver lobule structure, necrosis of liver cells, infiltration of a large number of inflammatory cells and other pathological damage, and a large number of collagen deposition, fibrosis and degeneration, the levels of serum ALT, AST, TBIL, DBIL,

\* 基金项目: 2017 年浙江省医药卫生计划项目(2017KY519)。 作者简介: 胡耀元(1993-), 住院医师, 在读硕士研究生, 主要从事中医脾胃肝胆研究。

△ 通信作者, E-mail: hyh0512x@163.com。

TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 and IL-6 significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the expressions of FXR, BSEP proteins in liver tissue decreased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the pathological damage and fibrosis degree of the liver tissue in the low, middle and high dose groups of Scoparone and the ursodeoxycholic acid group were reduced. The levels of serum ALT, AST, TBIL, DBIL, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 and IL-6 decreased ( $P < 0.05$ ), and the expressions of FXR, BSEP proteins in liver tissue increased ( $P < 0.05$ ). Each dose group of Scoparone was dose-dependent, and there was no significant difference between the high dose group of Scoparone and the ursodeoxycholic acid group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Scoparone can prevent the inflammation of the liver tissue, alleviate the progress of fibrosis, improve the symptoms of intrahepatic cholestasis, and enhance the liver function in rats with common bile duct ligation, which may be achieved through the FXR/BSEP pathway.

**[Key words]** cholestasis, intrahepatic; scoparone; FXR/BSEP; common bile duct ligation

胆汁淤积性肝病是临床常见的肝脏病变,胆管结构、功能受损及胆汁形成、分泌异常均是该病的致病因素,患者因胆汁代谢或流动性障碍导致胆汁在肝内淤积,引发肝损伤及肝纤维化,若得不到有效治疗,最终会造成肝硬化、肝功能衰竭,甚至发展为肝癌<sup>[1-2]</sup>。法尼醇 X 受体(FXR)作为核受体超家族成员,可介导机体胆汁酸的合成、分泌、转运及吸收,还可通过调控胆汁酸输出泵蛋白抗体(BSEP)表达,影响胆酸盐及胆红素的转运过程<sup>[3]</sup>;抑制机体 FXR 及 BSEP 表达,可引发肝内胆汁淤积,造成肝损伤。有研究证实 FXR/BSEP 信号下调是胆汁淤积性肝病发生及病情进展的主要分子机制<sup>[4]</sup>。滨蒿内酯主要提取自菊科植物陈蒿,具有清热利胆,退黄保肝的功效,常用于肝炎、黄疸、脂肪肝等肝脏疾病的临床治疗,还是治疗胆汁淤积症的中药茵栀黄注射液的主要活性成分<sup>[5-6]</sup>;但滨蒿内酯单独应用对胆总管结扎大鼠 FXR/BSEP 信号通路及肝内胆汁淤积的影响,目前还少见报道。本文通过结扎胆总管建立肝内胆汁淤积大鼠模型,对此进行探讨,现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

SD 雄性大鼠(浙江中医药大学动物实验中心), SPF 级,生产许可证号为 SCXK(沪)2018-0006,实验动物使用许可证号为 SYXK(浙)2018-0012。所有大鼠于本院动物房中饲养,自然光照,自由饮食、饮水,温度 25℃,相对湿度 50%,噪音低于 80 分贝,保持动物房环境及鼠笼清洁、透气。

#### 1.1.2 主要试剂及仪器

滨蒿内酯(货号 B20110-20mg,上海源叶生物科技有限公司);熊去氧胆酸胶囊(规格 25 粒,批号 H20150365,Losan Pharma GmbH 公司);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(货号 E607218-0200,上海生物工程有限公司);Masson 染色试剂盒(货号 XY-4422-1,上海信裕生物科技有限公司);大鼠转化生长因子  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1) ELISA 试剂盒(货号 EK-0514,上海和序生物科技有限公司);兔抗 BSEP 一抗(货号 GD-H1096,上海古朵生物科技有限公司);大鼠肿瘤坏死

因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6(IL-6)ELISA 试剂盒、兔抗 GAPDH、FXR 一抗、羊抗兔二抗(货号 ab208348、ab100712、ab181602、ab73299、ab150077,美国 Abcam 公司);蛋白提取试剂盒、BCA 试剂盒(货号 P0027、P0011,上海碧云天公司)等。全自动生化分析仪(型号 PUZS-300,上海帝博思生物科技有限公司);手动轮转式切片机(型号 RM2125RTS,德国 Leica 公司);光学显微镜(型号 SMZ745,日本 Nikon 公司);酶标仪(型号 XELx800,美国 Perkin Elmer 公司);蛋白电泳仪、半干转膜仪(型号 1659001、Trans-Blot SD,美国 Bio-Rad 公司);凝胶成像仪(型号 GIS-500,杭州米欧仪器有限公司)等。

## 1.2 方法

### 1.2.1 动物模型制备及分组给药

参考文献[7]制备大鼠胆总管结扎模型,SD 大鼠以 30 mg/kg 剂量的 2.5% 戊巴比妥钠溶液腹腔注射麻醉,仰卧固定于操作台,腹部备皮、消毒后开腹腔,于大网膜内找到胆总管并钝性分离,使用缝合线结扎胆总管,然后关腹、缝合、消毒即可,共成功造模 60 只,分为模型组、滨蒿内酯低剂量组(25 mg/kg)、滨蒿内酯中剂量组(50 mg/kg)、滨蒿内酯高剂量组(100 mg/kg)、熊去氧胆酸组(60 mg/kg),每组 12 只,另取 12 只大鼠仅分离胆总管后关腹,设为假手术组。术后 24 h 开始给药,滨蒿内酯以生理盐水配置为 2.5、5.0、10.0 mg/mL 的混悬液<sup>[8]</sup>,熊去氧胆酸以生理盐水配置为 6 mg/mL 的溶液<sup>[9]</sup>,药物处理组大鼠均以 10 mL/kg 的剂量灌胃,假手术组与模型组以等剂量生理盐水灌胃。

### 1.2.2 大鼠肝功能检测及标本采集

给药结束后 24 h,将大鼠麻醉后处死,腹主动脉取血 4 mL,静置离心后,取上清液,采用全自动生化分析仪测定大鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)水平。然后解剖大鼠,获得肝脏,剪取约 0.5 g 肝组织,剪碎后置于蛋白裂解液中,以匀浆机研磨制备为匀浆液,离心后收集上清液,得到总蛋白样品液,储存于液氮中备用。剩余肝组织置于生理盐水中漂洗干净,采用 4% 多聚甲醛溶液固定后,经低浓度

到高浓度梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后,使用切片机进行切片,得到常规病理切片备用。

### 1.2.3 大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、TGF- $\beta$ 1 水平检测

血清置于 4 °C 冰箱中解冻后,以 ELISA 试剂盒检测其中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 TGF- $\beta$ 1 水平,具体操作按说明书进行。

### 1.2.4 大鼠肝组织病理损伤及纤维化检测

取出 1.2.2 中的切片,选取其中完整无损的片子,以二甲苯脱蜡、高浓度到低浓度梯度乙醇处理后,使用 HE 试剂盒及 Masson 试剂盒进行染色,具体操作步骤参照各自说明书进行。经再次脱水、透明后封片,使用普通光学显微镜观察肝组织形态,任选 5 个视野拍照。

### 1.2.5 Western blot 检测大鼠肝组织 FXR/BSEP 通路蛋白表达

冻存的各自蛋白样品液,置于 4 °C 冰箱中解冻后,参照 BCA 试剂盒的说明书测定其中蛋白浓度,然后调整各组蛋白浓度至相同,经煮沸变性后,各取 20  $\mu$ L 样品液进行电泳分离蛋白,接着湿转法将全部蛋白转移至硝酸纤维膜上,将膜置于 5% 的脱脂奶粉溶液中,于摇床上室温封闭 2 h,将目的蛋白条带根据分子量截取下来,置于孵育盒中,加入 1:2 000 的兔抗 FXR、BSEP、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗,于 4 °C 冰箱中孵育过夜,经 TBST 漂洗 3 次,加入 1:1 000 的羊抗兔二抗溶液,于摇床上室温孵育 2 h,经 TBST 再次漂洗 3 次,采用增强化学发光法显色,以凝胶成像仪观察条带并拍照,并以 Image J 软件分析各组蛋白相对表达水平。

## 1.3 统计学处理

以 SPSS22.0 软件对实验数据进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较进行单因素方差分析,进一步两组间比较行 LSD- $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 滨蒿内酯对大鼠肝功能的影响

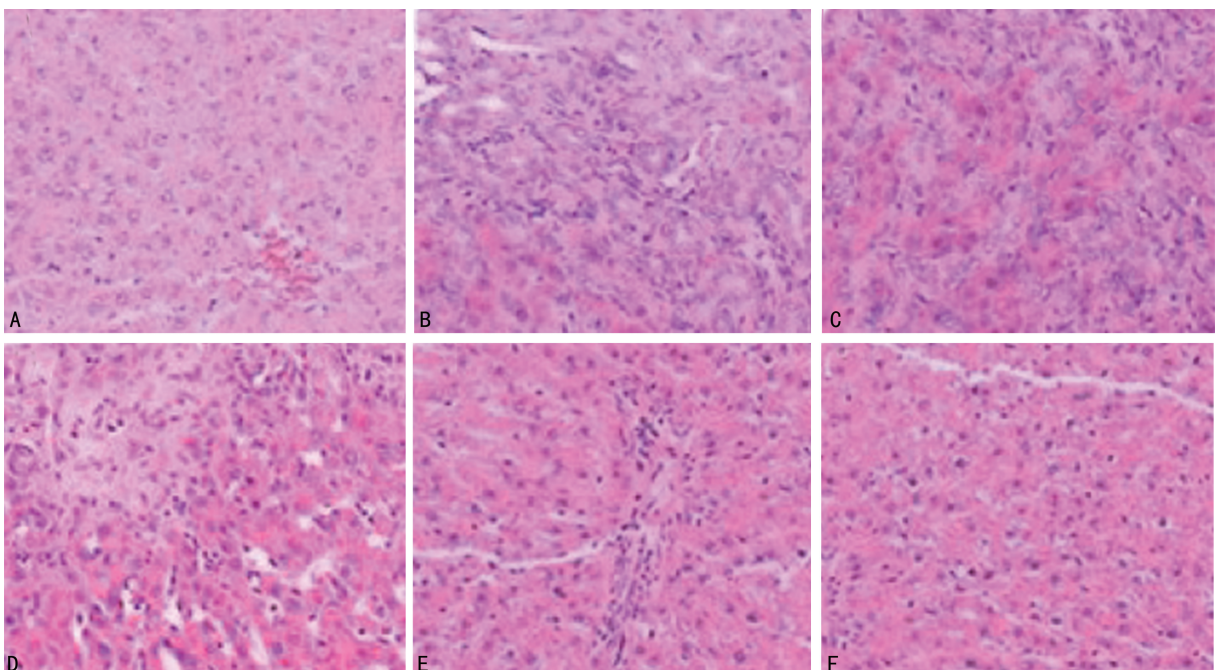
与假手术组相比,模型组大鼠血清 ALT、AST、DBIL、TBIL 水平明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组相比,滨蒿内酯低、中、高剂量组、熊去氧胆酸组大鼠肝指数,血清 ALT、AST、DBIL、TBIL 水平降低( $P < 0.05$ );滨蒿内酯各剂量组呈剂量依赖性,滨蒿内酯高剂量组与熊去氧胆酸组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

### 2.2 滨蒿内酯对大鼠肝组织病理损伤的影响

假手术组大鼠肝组织形态结构正常无损伤;模型组大鼠肝组织呈现肝索排列紊乱,肝小叶结构受损,肝细胞坏死,有大量炎症细胞浸润等病理损伤;滨蒿内酯低、中、高剂量组、熊去氧胆酸组大鼠肝组织上述病理损伤减轻,且病理损伤随滨蒿内酯剂量升高而减轻,滨蒿内酯高剂量组与熊去氧胆酸组相比,肝组织上述病理损伤减轻程度无明显差异,见图 1。

### 2.3 滨蒿内酯对大鼠肝组织纤维化的影响

假手术组大鼠肝组织无胶原沉积,未发生纤维化;模型组大鼠肝组织出现大量胶原沉积,胶原纤维大量增生,并交联呈网状结构,呈现纤维化变性;滨蒿内酯低、中、高剂量组、熊去氧胆酸组大鼠肝组织胶原沉积降低,纤维化程度减轻,并随滨蒿内酯剂量升高而减轻程度增强,滨蒿内酯高剂量组与熊去氧胆酸组相比,纤维化减轻程度无明显差异,见图 2。



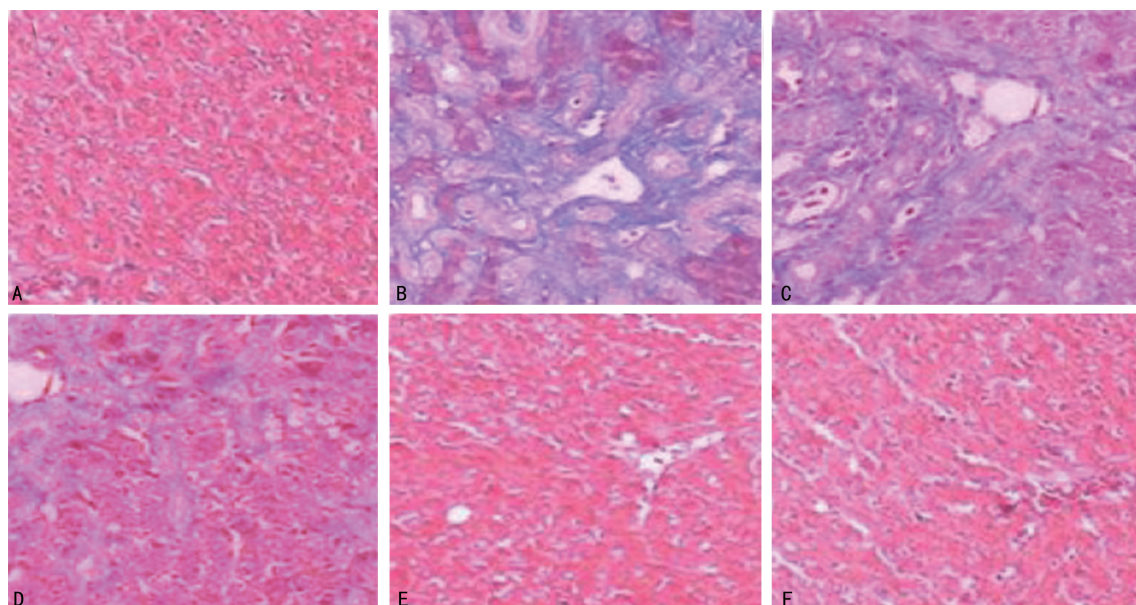
A:假手术组;B:模型组;C:滨蒿内酯低剂量组;D:滨蒿内酯中剂量组;E:滨蒿内酯高剂量组;F:熊去氧胆酸组。

图 1 各组大鼠肝组织病理损伤程度(HE $\times$ 200)

表 1 各组大鼠血清肝功能指标 TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 TGF- $\beta$ 1 水平比较( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)	DBIL( $\mu$ mol/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	TNF- $\alpha$ (ng/mL)	IL-6(ng/mL)	TGF- $\beta$ 1(pg/mL)
假手术组	31.46 $\pm$ 6.12	69.34 $\pm$ 8.52	0.71 $\pm$ 0.13	1.32 $\pm$ 0.28	1.31 $\pm$ 0.24	1.13 $\pm$ 0.18	115.43 $\pm$ 24.81
模型组	65.89 $\pm$ 9.01 <sup>a</sup>	97.07 $\pm$ 13.03 <sup>a</sup>	98.92 $\pm$ 13.25 <sup>a</sup>	133.07 $\pm$ 15.16 <sup>a</sup>	13.81 $\pm$ 2.36 <sup>a</sup>	12.26 $\pm$ 2.57 <sup>a</sup>	689.76 $\pm$ 72.53 <sup>a</sup>
滨蒿内酯低剂量组	54.75 $\pm$ 8.24 <sup>b</sup>	87.42 $\pm$ 12.01 <sup>b</sup>	66.27 $\pm$ 12.13 <sup>b</sup>	89.26 $\pm$ 12.75 <sup>b</sup>	9.83 $\pm$ 1.64 <sup>b</sup>	8.97 $\pm$ 1.37 <sup>b</sup>	498.91 $\pm$ 64.35 <sup>b</sup>
滨蒿内酯中剂量组	43.35 $\pm$ 7.27 <sup>bc</sup>	78.27 $\pm$ 11.37 <sup>bc</sup>	34.35 $\pm$ 11.25 <sup>bc</sup>	45.01 $\pm$ 11.07 <sup>bc</sup>	5.89 $\pm$ 0.92 <sup>bc</sup>	5.01 $\pm$ 0.73 <sup>bc</sup>	310.06 $\pm$ 46.07 <sup>bc</sup>
滨蒿内酯高剂量组	32.76 $\pm$ 7.03 <sup>bcd</sup>	70.18 $\pm$ 9.27 <sup>bcd</sup>	2.18 $\pm$ 0.41 <sup>bcd</sup>	2.76 $\pm$ 0.51 <sup>bcd</sup>	1.52 $\pm$ 0.22 <sup>bcd</sup>	1.34 $\pm$ 0.21 <sup>bcd</sup>	124.31 $\pm$ 28.22 <sup>bcd</sup>
熊去氧胆酸组	32.66 $\pm$ 7.01 <sup>bcd</sup>	70.05 $\pm$ 9.16 <sup>bcd</sup>	1.95 $\pm$ 0.38 <sup>bcd</sup>	2.52 $\pm$ 0.58 <sup>bcd</sup>	1.42 $\pm$ 0.21 <sup>bcd</sup>	1.29 $\pm$ 0.20 <sup>bcd</sup>	120.27 $\pm$ 29.02 <sup>bcd</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与假手术组相比; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与模型组相比; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与滨蒿内酯低剂量组相比; <sup>d</sup>:  $P < 0.05$ , 与滨蒿内酯中剂量组相比。

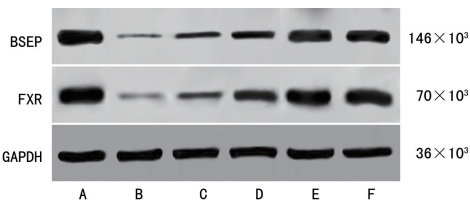


A: 假手术组; B: 模型组; C: 滨蒿内酯低剂量组; D: 滨蒿内酯中剂量组; E: 滨蒿内酯高剂量组; F: 熊去氧胆酸组。

图 2 各组大鼠肝组织纤维化程度(Masson $\times$ 200)

### 2.4 滨蒿内酯对大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、TGF- $\beta$ 1 水平的影响

与假手术组相比,模型组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、TGF- $\beta$ 1 水平明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组相比,滨蒿内酯低、中、高剂量组、熊去氧胆酸组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、TGF- $\beta$ 1 水平降低( $P < 0.05$ );滨蒿内酯各剂量组呈剂量依赖性,滨蒿内酯高剂量组与熊去氧胆酸组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。



A: 假手术组; B: 模型组; C: 滨蒿内酯低剂量组; D: 滨蒿内酯中剂量组; E: 滨蒿内酯高剂量组; F: 熊去氧胆酸组。

图 3 Western blot 检测各组大鼠肝组织 FXR、BSEP 蛋白表达

### 2.5 滨蒿内酯对大鼠肝组织 FXR/BSEP 通路蛋白表达的影响

与假手术组相比,模型组大鼠肝组织 FXR、BSEP 蛋白表达水平明显降低( $P < 0.05$ )。与模型组相比,滨蒿内酯低、中、高剂量组、熊去氧胆酸组大鼠肝组织

FXR、BSEP 蛋白表达水平升高( $P < 0.05$ );滨蒿内酯各剂量呈剂量依赖性,滨蒿内酯高剂量组与熊去氧胆酸组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 3、表 2。

表 2 各组大鼠肝组织 FXR、BSEP 蛋白相对表达( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	FXR/GAPDH	BSEP/GAPDH
假手术组	1.18 $\pm$ 0.23	1.15 $\pm$ 0.21
模型组	0.11 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
滨蒿内酯低剂量组	0.34 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.41 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>
滨蒿内酯中剂量组	0.69 $\pm$ 0.10 <sup>bc</sup>	0.72 $\pm$ 0.10 <sup>bc</sup>
滨蒿内酯高剂量组	1.11 $\pm$ 0.13 <sup>bcd</sup>	1.08 $\pm$ 0.24 <sup>bcd</sup>
熊去氧胆酸组	1.10 $\pm$ 0.20 <sup>bcd</sup>	1.09 $\pm$ 0.25 <sup>bcd</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与假手术组相比; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与模型组相比; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与滨蒿内酯低剂量组相比; <sup>d</sup>:  $P < 0.05$ , 与滨蒿内酯中剂量组相比。

### 3 讨 论

胆汁淤积性肝病的发病机制复杂,肝内胆汁淤积引发的肝内免疫炎症反应在其致病过程中发挥关键作用;胆汁淤积于肝内后,机体促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 大量生成,诱导肝组织产生炎症,引发肝细胞凋亡、坏

死<sup>[10-11]</sup>,并激活肝星状细胞,促使纤维化因子 TGF- $\beta$ 1 表达增强,造成肝纤维化,最终损害肝功能<sup>[12-13]</sup>。在肝病的临床诊断中,血清 ALT 和 AST 水平通常可作为判断肝损伤重要指标<sup>[14]</sup>;同时 TBIL 和 DBIL 可作为反映胆汁淤积型肝损伤的主要指标<sup>[15]</sup>。研究发现,胆总管结扎所诱发的肝脏损伤,与人类肝内胆汁淤积症的生化指标变化、病理形态改变、临床症状均相似,其动物模型在临床及基础研究中得到了广泛的应用<sup>[16]</sup>。本文结扎胆总管建立肝内胆汁淤积大鼠模型,结果显示建模大鼠肝组织呈现肝索排列紊乱,肝小叶结构受损,肝细胞坏死,炎症细胞大量浸润等病理损伤,且出现大量胶原沉积,呈现纤维化变性,血清 ALT、AST、DBIL、TBIL、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 及 IL-6 水平明显升高,表明结扎胆总管可引发大鼠肝内炎症反应,导致胆汁淤积型肝损伤,造成肝功能障碍,揭示模型建立成功。

目前临床治疗胆汁淤积的常用药物主要为熊去氧胆酸及 S-腺苷胆氨酸,但这些药物价格昂贵,疗程长,且治疗效果有限,因此还需要不断探索更为有效的药物应用于临床<sup>[17]</sup>。滨蒿内酯作为中药陈蒿的主要活性成分,具有舒张气管、抗炎和免疫抑制的作用,而陈蒿是治疗胆汁淤积症的利胆退黄汤、茵栀黄汤等中药方剂主要组成成分<sup>[5-6,18]</sup>。因此推测滨蒿内酯可能改善胆总管结扎大鼠肝内胆汁淤积症状。本研究结果显示,经滨蒿内酯处理后,胆总管结扎大鼠肝组织病理损伤及纤维化程度减轻,血清 ALT、AST、DBIL、TBIL、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 及 IL-6 水平降低,且呈剂量依赖性,表明滨蒿内酯可抑制肝内炎症发生,减轻肝组织病理损伤,延缓肝纤维化,改善肝功能,并随剂量升高而作用增强。

FXR/BSEP 是机体调控胆汁成分代谢及胆汁酸内平衡的关键信号,抑制其通路蛋白表达,可降低胆汁酸的转运及吸收,胆酸盐、胆红素的转运,导致胆汁淤积于肝内,引发肝功能损伤;而上调其表达,可减轻肝损伤,因而 FXR/BSEP 信号是胆汁淤积症的关键治疗靶点<sup>[19-20]</sup>。本研究结果显示,模型组大鼠肝组织中 FXR、BSEP 蛋白表达明显降低,以滨蒿内酯处理后,模型大鼠肝组织中 FXR、BSEP 蛋白表达升高,表明滨蒿内酯可上调 FXR/BSEP 通路表达,阻止肝内炎症发生,减弱肝组织病理损伤及纤维化,修复肝功能,揭示滨蒿内酯可能通过激活 FXR/BSEP 通路,减轻胆总管结扎大鼠肝内胆汁淤积症状。

综上所述,滨蒿内酯可能通过激活 FXR/BSEP 通路,降低胆总管结扎大鼠肝组织中促炎因子及致纤维化因子水平,缓解肝组织炎症反应及肝纤维化,减轻肝功能损伤,为临床肝内胆汁淤积性肝病的治疗提供了新思路,但本研究未通过上调及抑制该信号通路来进行对照验证,存在一定不足,有待后续深入研究。

## 参考文献

- [1] HARGROVE L, KENNEDY L, DEMIEVILLE J, et al. Bile duct ligation-induced biliary hyperplasia, hepatic injury, and fibrosis are reduced in mast cell-deficient Kit(W-sh) mice[J]. *Hepatology*, 2017, 65(6):262-250.
- [2] KHAN Z, YOKOTA S, ONO Y, et al. Bile duct ligation induces ATZ globule clearance in a mouse model of alpha-1 antitrypsin deficiency[J]. *Gene Expr*, 2017, 17(2):115-127.
- [3] ZHANG Y, JACKSON J P, CLAIRE R L S, et al. Obeticholic acid, a selective farnesoid X receptor agonist, regulates bile acid homeostasis in sandwich-cultured human hepatocytes[J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2017, 5(4):e00329-00339.
- [4] KIM K H, CHOI J M, LI F, et al. Xenobiotic nuclear receptor signaling determines molecular pathogenesis of progressive familial intrahepatic cholestasis[J]. *Endocrinology*, 2018, 159(6):2435-2446.
- [5] 周岐鸣,徐姣雅,季光,等.滨蒿内酯治疗非酒精性脂肪性肝病的作用及机制研究进展[J].*中西医结合肝病杂志*, 2019, 29(2):96-98.
- [6] 马玉琴,李亚琴,李美琴.腺苷蛋氨酸联合茵栀黄治疗妊娠期肝内胆汁淤积症的临床研究[J].*肝脏*, 2017, 22(11):1064-1066.
- [7] 谢君,谢晓芳,李梦婷,等.肝苏颗粒对胆总管阻塞性肝纤维化大鼠肝功能和病理损伤的影响[J].*中药与临床*, 2018, 9(2):48-51.
- [8] 谭桢,刘爱明,罗敏,等.茵栀黄注射液抗胆汁淤积药效成分的筛选及其作用机制研究[J].*中国中药杂志*, 2016, 41(6):1113-1118.
- [9] 张林利,王筱雯,鄢素琪,等.法尼醇 X 受体在胆汁淤积幼龄大鼠模型中的表达及利胆合剂的干预作用[J].*时珍国医国药*, 2019, 30(8):1833-1836.
- [10] GEHRKE N, NAGEL M, STRAUB B K, et al. Loss of cellular FLICE-inhibitory protein promotes acute cholestatic liver injury and inflammation from bile duct-ligation[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2018, 314(3):G319-333.
- [11] OZLER A, UCMAK D, EVSEN M S, et al. Immune mechanisms and the role of oxidative stress in intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2014, 39(2):198-202.

- [8] 王靓,龙子江,施慧,等. 心康注射液对心肌缺血模型大鼠 PGI<sub>2</sub>/TXA<sub>2</sub> 平衡和血小板聚集的影响[J]. 中成药,2011,33(4):581-583.
- [9] 郑晓瑛,姚静,朱加美,等. 硫酸镁、硝苯地平片联合丹参注射液对子痫前期患者 ET-1/NO、TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> 及血液流变学的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2015,35(8):962-965.
- [10] 孙佳星,徐晓婷,涂彧. 塞来昔布对人脑微血管内皮细胞放射后凋亡及释放 PGI<sub>2</sub> 和 TXA<sub>2</sub> 影响[J],中华放射肿瘤学杂志,2017,26(6):682-686.
- [11] 邱乐,王新生,刘擎,益气活血法改善缺血性脑卒中急性期大鼠微循环障碍的机制[J],中国老年学杂志,2012,32(11):2323-2325.
- [12] MAHESHWARI A, NORBY F L, SOLIMAN E Z, et al. Abnormal P-Wave axis and ischemic stroke: the ARIC study (atherosclerosis risk in communities)[J]. Stroke,2017,48(8):2060-2065.
- [13] 范雪松,王恩世,贺建勋,等. 小而密低密度脂蛋白胆固醇及其与低密度脂蛋白胆固醇之比与颈动脉粥样硬化斑块的关系[J]. 中华检验医学杂志,2018,41(3):219-226.
- [14] 谢坚,张虹桥,章成国,等. 瑞舒伐他汀与阿托伐他汀对急性脑梗死患者血脂、血清超敏 C 反应蛋白及颈动脉粥样硬化斑块作用的比较[J]. 临
- 床神经病学杂志,2015,28(1):37-41.
- [15] 张远生,史丽. 瑞舒伐他汀与阿托伐他汀对冠心病伴高脂血症患者的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(4):315-318.
- [16] 刘少云,杨雪佳,孔立茶,等. 瑞舒伐他汀与辛伐他汀治疗高脂血症有效性的 Meta 分析[J]. 天津医药,2017,45(12):1324-1329.
- [17] WANG Y, WANG M D, XIA Y P, et al. MicroRNA-130a regulates cerebral ischemia-induced blood-brain barrier permeability by targeting Homeobox A5[J]. FASEB J, 2018, 32(2):935-944.
- [18] 丁煌,唐三,杨筱倩,等. 冰片配伍黄芪甲苷与三七总皂苷对脑缺血/再灌注后血脑屏障通透性的影响[J]. 中国药理学通报,2019,35(11):1516-1523.
- [19] 刘辉,苏建,耿海威. 不同剂量瑞舒伐他汀对颈动脉粥样硬化患者白介素 6 和超敏 C 反应蛋白的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志,2016,19(4):121-122.
- [20] 尹虹祥,宋林,贾复敏,等. 丁苯肽软胶囊治疗缺血型 Moyamoya 综合征的临床疗效观察[J]. 神经损伤与功能重建,2015,10(4):339-340.

(收稿日期:2019-12-20 修回日期:2020-04-19)

(上接第 1574 页)

- [12] SEOK R Y, ARA C, YOUN-SOO C, et al. Lactobacillus aggravate bile duct ligation-induced liver inflammation and fibrosis in mice [J]. Toxicol Res,2018,34(3):241-247.
- [13] YANG N, DANG S, SHI J, et al. Caffeic acid phenethyl ester attenuates liver fibrosis via inhibition of TGF- $\beta$ 1/Smad3 pathway and induction of autophagy pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun,2017,486(1):22-28.
- [14] LI L, YIN H, ZHAO Y, et al. Protective role of puerarin on LPS/D-Gal induced acute liver injury via restoring autophagy [J]. Am J Transl Res,2018,10(3):957-965.
- [15] 朱疆依,韩英. 关于胆汁淤积性肝病诊断的几点探讨[J]. 实用肝脏病杂志,2016,19(6):647-649.
- [16] VAN GOLEN R F, OLTHOF P B, DE HAAN L R, et al. The pathophysiology of human obstructive cholestasis is mimicked in cholestatic Gold Syrian hamsters [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis,2018,1864(3):942-951.
- [17] ZHANG L, LIU X H, QI H B, et al. Ursode-
- oxycholic acid and S-adenosylmethionine in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy: a multi-centered randomized controlled trial [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2015,19(19):3770-3776.
- [18] 张广玉,张玉峰,汪伟,等. 利胆退黄汤对 ANIT 诱导的胆汁淤积型黄疸模型大鼠的治疗作用 [J]. 新中医,2018,50(6):1-5.
- [19] ZHU L, WANG L, CAO F, et al. Modulation of transport and metabolism of bile acids and bilirubin by chlorogenic acid against hepatotoxicity and cholestasis in bile duct ligation rats: involvement of SIRT1-mediated deacetylation of FXR and PGC-1 $\alpha$  [J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci,2018,25(3):195-205.
- [20] TAKAHASHI S, TANAKA N, GOLLA S, et al. Farnesoid X receptor protects against low-dose carbon tetrachloride-induced liver injury through the taurocholate-JNK pathway [J]. Toxicol Sci,2017,158(2):334-346.

(收稿日期:2019-12-05 修回日期:2020-03-28)