

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.19.004

基于 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路探讨忍冬苷 对脓毒症肝损伤大鼠的影响 *

郑佳萍¹ 陈天阳¹ 周 桢¹ 王馨贤² 方灶军³

(1 上海中医药大学附属曙光医院急诊科 上海 201203; 2 浙江省立同德医院急诊科 浙江 杭州 310012;

3 苏州市相城区中医医院肺病科 江苏 苏州 215155)

摘要 目的:基于高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)/Toll 样受体 4(TLR4)/核因子 κ B(NF- κ B)信号通路探讨忍冬苷对脓毒症肝损伤大鼠的影响。**方法:**60 只雄性 SD 大鼠随机分为模型组、对照组、阳性对照组(地塞米松 10 mg/kg)、忍冬苷低剂量(7.5 mg/kg)、忍冬苷中剂量(15 mg/kg)、忍冬苷高剂量(30 mg/kg)组,每组 10 只。采用盲肠结扎穿孔法建立大鼠脓毒症模型。实验结束后麻醉大鼠取血制备血清,检测血清中超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-10(IL-10)含量;分离肝组织称重,计算肝脏指数,一部分用于 HE 染色观察肝组织病理变化,一部分用于制备组织匀浆检测组织中肝功能指标谷丙转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)活性及 HMGB1、TLR4、NF- κ B 蛋白表达。**结果:**与对照组比较,模型组大鼠血清中 MDA、TNF- α 、IL-6 含量、肝脏指数以及肝组织中 AST、ALT 活性、HMGB1、TLR4、NF- κ B 蛋白表达显著增加 ($P<0.05$),SOD 活性与 IL-10 含量显著下降($P<0.05$);且肝组织出现明显病灶,肝细胞水肿变性,大量炎性细胞浸润。与模型组比较,阳性对照组与忍冬苷各剂量组大鼠血清中 MDA、TNF- α 、IL-6 含量、肝脏指数以及肝组织中 AST、ALT 活性、HMGB1、TLR4、NF- κ B 蛋白表达显著降低($P<0.05$),SOD 活性与 IL-10 含量显著升高($P<0.05$);忍冬苷低、中剂量组仍可见病灶和水肿,但病变减轻;地塞米松组与忍冬苷高剂量组肝细胞结构趋于正常,未发现病灶。与阳性对照组比较,忍冬苷低、中剂量组大鼠血清中 MDA、TNF- α 、IL-6 含量、肝脏指数以及肝组织中 AST、ALT 活性、HMGB1、TLR4、NF- κ B 蛋白表达显著升高 ($P<0.05$),SOD 活性与 IL-10 含量显著降低($P<0.05$);忍冬苷高剂量组上述指标无显著差异($P>0.05$)。**结论:**忍冬苷通过下调 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路的表达,抑制氧化应激,减轻炎症反应,改善肝功能,发挥对脓毒症肝损伤的保护作用。

关键词:忍冬苷;脓毒症;肝损伤;HMGB1;TLR4;NF- κ B;信号通路

中图分类号:R-33;R631.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)19-3619-06

Study on Effect of Lonicerins on Sepsis Liver Injury in Rats Based on the HMGB1/TLR4/NF- κ B Signaling Pathway*

ZHENG Jia-ping¹, CHEN Tian-yang¹, ZHOU Zhen¹, WANG Xin-xian², FANG Zao-jun³

(1 Department of Emergency, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 201203, China; 2 Department of Emergency, Zhejiang Provincial Tongde Hospital, Hangzhou, Zhejiang, 310012, China; 3 Department of Pulmonary Disease, Suzhou Xiangcheng District Traditional Chinese Medicine Hospital, Suzhou, Jiangsu, 215155, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of lonicerin on septic liver injury in rats based on the high mobility group protein B1 (HMGB1)/Toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway. **Methods:** 60 male SD rats were divided into model group, control group, positive control group (dexamethasone 10 mg/kg), lonicerin low dose (7.5 mg/kg), lonicerin middle dose (15 mg/kg), lonicerin high dose (30 mg/kg) groups, each group had 10 rats. The cecal ligation and puncture method was used to establish a rat sepsis model. After the experiment, the rats were anesthetized and blood was collected to prepare serum, and the superoxide Dismutase (SOD) activity and the contents of malondialdehyde (MDA), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10) in the serum were detected. The liver tissues were separated and weighed, the liver index was calculated, one part was used for HE staining to observe the pathological changes of liver tissue, and the other part was used to prepare tissue homogenate to detect the activities of liver function indexes alanine transaminase (ALT), aspartate Transaminase (AST) and the protein expression of HMGB1, TLR4 and NF- κ B in the tissue. **Results:** Compared with the control group, the serum MDA, TNF- α , IL-6 contents, liver index, and liver tissue AST, ALT activity, HMGB1, TLR4 and NF- κ B protein expression were increased significantly in the model group ($P<0.05$), the SOD activity and IL-10 content decreased significantly ($P<0.05$). Obvious lesions appeared in liver tissue, hepatocytes were edema and degeneration, and a large number of inflammatory cells infiltrated. Compared with the model group, the serum MDA, TNF- α , IL-6 contents, liver index, and liver tissue AST, ALT activity, HMGB1, TLR4, and NF- κ B protein expression in the positive control group and the lonicerin each dose groups decreased significantly ($P<0.05$), the SOD activity and IL-10 content increased significantly ($P<0.05$). The

* 基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(17401935000)

作者简介:郑佳萍(1996-),女,在读硕士研究生,研究方向:急诊、重症医学,E-mail: zjp17317313160@126.com

(收稿日期:2023-04-18 接受日期:2023-05-14)

lesions and edema were still seen in the lonicerin low and middle dose groups, but the lesions were alleviated. The liver cell structure of the positive control group and the lonicerin high dose group tended to be normal, and no lesions were found. Compared with the positive control group, the serum MDA, TNF- α , IL-6 contents, liver index, and liver tissue AST, ALT activity, HMGB1, TLR4, and NF- κ B protein expression in the lonicerin low and middle dose groups increased significantly ($P < 0.05$), the SOD activity and IL-10 content reduced significantly ($P < 0.05$). There were no significant differences in the above indicators in the lonicerin high dose group ($P > 0.05$). **Conclusion:** Lonicerin can down-regulate the HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway, reduce inflammation reaction and oxidative stress, improve liver function, and play a protective effect on septic liver injury.

Key words: Lonicerin; Sepsis; Liver injury; HMGB1; TLR4; NF- κ B; Signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R631.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)19-3619-06

前言

脓毒症是以宿主对由内毒素与外毒素感染造成的反应失调,导致器官功能障碍为主要病理特征,其发病突然,病死率极高^[1,2]。脓毒症发生发展的主要病理机制是体内炎症因子释放过多,机体炎症反应动态平衡被破坏^[3],而肝脏是炎症反应的靶器官,参与清除病原以及抵抗炎症反应^[4]。另外脓毒症发生时,诱导体内释放大量活性氧,引发脂质过氧化反应,导致肝损伤^[5]。因此肝脏是脓毒症发生过程中最易受损且的器官,并且脓毒症并发肝损伤也是导致病患死亡的主要原因^[6]。研究发现^[7],高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1)/Toll 样受体 4 (TLR4)/核因子 κ B (NF- κ B)信号通路在脓毒症发生发展过程中激活炎症反应,是诱导炎症因子过表达的重要通路。忍冬苷是存在于忍冬科植物中的一种天然黄酮类化合物^[8],因其含量极低,且合成较难,因此目前临床上关于忍冬苷的研究较少。现有的研究发现^[9,10],忍冬苷具有抗凋亡,调节免疫炎症等作用,在脂多糖诱导的急性肺损伤中其能够抑制炎症反应、减少促炎因子释放等。忍冬苷对于肝脏的保护作用,目前研究尚少。地塞米松已被证实能够有效减轻脓毒症造成的器官功能障碍,改善炎症反应^[11],本文将作为忍冬苷的阳性对照药物。本研究通过建立脓毒症大鼠模型,探究忍冬苷能否通过调控 HMGB1/TLR4/NF- κ B 通路,发挥对脓毒症大鼠肝损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择健康的 SD 大鼠共 60 只(雄性),周龄为 6 周,SPF 级,体质量为 200~220 g,购自海南药物研究所有限责任公司。实验全程遵守实验动物伦理委员会要求进行。实验前适应性饲养一周,期间自由饮水采食,饲养环境为:温度 22℃~25℃,湿度 40%~45%,明暗交替 12 h:12 h。实验前禁食 12 h。

1.2 实验药物与试剂

忍冬苷(DR0048,规格:10 mg/支,纯度:≥98%,成都德思特生物技术有限公司);地塞米松(D8040)、ECL 化学发光试剂盒(SW2010)(北京索莱宝科技有限公司);丙二醛(MDA)(A003-1-2)、超氧化物歧化酶(SOD)(A001-3-2)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)(H007-1-1)、白介素-10(IL-10)(H015)试剂盒购自北京盒子生工科技有限公司;谷丙转氨酶(ALT)(C009-2-1)、天冬氨酸转氨酶(AST)(C010-2-1)试剂盒(南京建成生物工程研究所);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒

(LM0105)、RIPA(Radio Immunoprecipitation Assay)高效蛋白裂解液(LM3201-1)、聚羧基丙烯酸正丁酯(Bicinchoninic acid, BCA)蛋白浓度测定试剂盒(LM-3401-1)(上海联迈生物工程有限公司);HMGB1(ab18256)、TLR4(ab13556)、NF- κ B(ab16502)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)(ab9485)多克隆抗体、羊抗兔二抗[辣根过氧化物酶(HRP)标记,ab6721](英国 Abcam 公司)。

1.3 实验仪器

Contour Elite 三维光学显微镜(北京亿诚恒达科技有限公司);ZF-208 凝胶成像分析系统(上海金鹏分析仪器有限公司)。

1.4 方法

1.4.1 药物制备与剂量筛选 忍冬苷标准品 10 mg,以丙二醇有机溶液为溶媒,配置标准品溶液,稀释至 10 mL,制备呈 1 g/mL 的药液。实验前随机挑选 60 只 SD 大鼠进行剂量筛选实验,从实验可行性角度,确定忍冬苷给药剂量为成人用药剂量的 4 倍、8 倍和 16 倍。

1.4.2 模型建立与分组给药 按照随机数字表法,将 60 只 SD 大鼠分为忍冬苷高剂量组、忍冬苷中剂量、忍冬苷低剂量、阳性对照组、对照组、模型组,每组各 10 只。除对照外,其余 5 组参照文献^[12]采用盲肠结扎穿刺法建立大鼠脓毒症模型:腹腔注射 4%水合氯醛麻醉大鼠后,备皮于腹部并消毒,切口选择腹部正中处,将盲肠暴露,并结扎盲肠(用 3/0 丝线),18 号针穿刺 12 次并缓慢挤压直至出现少量粪便,重新将盲肠定位,缝合伤口。造模结束后观察大鼠外观,以出现竖毛征、精神不济、寒冷颤抖以及呼吸频率加快等情况为脓毒症模型建立成功^[13]。正常组仅剖腹,未进行结扎穿刺等操作。造模后 2 h,阳性对照组通过腹腔注射地塞米松 10 mg/kg^[11],忍冬苷低剂量、忍冬苷中剂量、忍冬苷高剂量组分别灌胃给药 7.5 mg/kg、15 mg/kg、30 mg/kg^[14],对照组和模型组给予等容量生理盐水,每日 1 次,连续给药 7 d。

1.4.3 氧化应激指标 MDA、SOD 水平的检测 实验结束后,麻醉大鼠颈静脉取血,分离血清,按照试剂盒说明书操作,采用 TBA 法检测 MDA 含量;WST-1 法检测 SOD 活性。

1.4.4 炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-10 含量的检测 取 1.4.3 分离的血清,采用 ELISA 法检测血清中炎症因子 IL-6、TNF- α 、IL-10 含量。

1.4.5 肝脏指数测定以及肝组织病理变化观察 称量大鼠体质量,处死后收集各组大鼠肝脏,分离肝脏上多余组织称取重量,计算肝脏指数:肝脏指数 = 肝脏质量(mg)/大鼠体质量(g) × 100%。

采集每组大鼠部分肝组织,行常规石蜡切片操作,以HE染色法染色,封片后置于显微镜下观察肝组织病理学变化。

1.4.6 肝功能指标 ALT、AST 活性的检测 取各组大鼠部分肝组织,裂解后匀浆取上清,按照试剂盒说明书,检测肝功能指标 ALT、AST 活性。

1.4.7 Western Blot 法检测肝组织中 HMGB1、NF- κ B、TLR4 蛋白表达 取剩余肝组织,加入蛋白裂解液进行匀浆,BCA 法测定总蛋白浓度,取 10 μ g 蛋白上样进行电泳、转膜,加入 4% 脱脂奶粉封闭 2 h 后,采用 TBST 溶液清洗,加入 HMGB1、TLR4、NF- κ B、GAPDH 一抗,4℃孵育过夜,TBST 清洗,加入二抗,室温孵育 1 h,TBST 清洗后采用 ECL 化学发光试剂显色,凝胶成像系统分析灰度值,以 GAPDH 为内参,计算 HMGB1、TLR4、NF- κ B 蛋白表达。

1.5 统计学分析

采用 SPSS22.0 对实验数据进行分析,计量数据以($\bar{x} \pm s$)

表示,两组间比较采用 LSD-t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 HSD-q 检验进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 忍冬苷对脓毒症大鼠血清中氧化应激指标的影响

模型组大鼠血清中 MDA 水平明显较对照组增加($P < 0.05$),SOD 活性显著下降($P < 0.05$);与模型组比较,阳性对照组与忍冬苷各剂量组大鼠血清中 MDA 含量显著降低($P < 0.05$),SOD 活性显著升高($P < 0.05$),且忍冬苷各剂量组间具有剂量效应($P < 0.05$);与阳性对照组比较,忍冬苷低、中剂量组大鼠血清中 MDA 含量显著增加($P < 0.05$),SOD 活性显著下降($P < 0.05$);忍冬苷高剂量组上述指标变化与阳性对照组比较无显著差异($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠 MDA、SOD 水平的比较($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 1 Comparison of MDA and SOD levels of rats in each group($\bar{x} \pm s$, n=10)

Groups	MDA(μ mol/L)	SOD(U/mL)
Control group	8.36 $\pm$ 0.81	156.71 $\pm$ 12.88
Model group	16.92 $\pm$ 1.58 ^a	63.59 $\pm$ 4.12 ^a
Positive control group	10.51 $\pm$ 1.01 ^b	134.26 $\pm$ 12.31 ^b
Lonicerin low dose group	14.67 $\pm$ 1.51 ^{bc}	89.34 $\pm$ 8.51 ^{bc}
Lonicerin middle dose group	12.74 $\pm$ 1.09 ^{bcd}	112.79 $\pm$ 10.36 ^{bcd}
Lonicerin high dose group	10.81 $\pm$ 0.92 ^{bde}	128.52 $\pm$ 11.79 ^{bde}
F value	66.420	103.531
P value	0.000	0.000

Note: compared with the control group, ^a $P < 0.05$; compared with the model group, ^b $P < 0.05$; compared with the positive control group, ^c $P < 0.05$; compared with the lonicerin low dose group, ^d $P < 0.05$; compared with the lonicerin middle dose group, ^e $P < 0.05$.

2.2 忍冬苷对脓毒症大鼠血清中炎症因子含量的影响

模型组大鼠血清中 IL-6、TNF- α 含量相对对照组显著增加,IL-10 含量显著降低($P < 0.05$);与模型比较,阳性对照组与忍冬苷各剂量组大鼠血清中 TNF- α 、IL-6 含量显著降低,IL-10 含量显著升高($P < 0.05$),且忍冬苷各剂量组间具有剂量效应

($P < 0.05$);与地塞米松组比较,忍冬苷低剂量、忍冬苷中剂量组大鼠血清中 TNF- α 、IL-6 含量显著增加,IL-10 含量显著降低($P < 0.05$);忍冬苷高剂量组上述指标变化与阳性对照组比较无显著差异($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IL-10 含量的比较($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 2 Comparison of TNF- α , IL-6 and IL-10 in serum of rats in each group($\bar{x} \pm s$, n=10)

Groups	TNF- α (pg/mL)	IL-6(pg/mL)	IL-10(pg/mL)
Control group	74.69 $\pm$ 5.76	52.58 $\pm$ 3.69	79.82 $\pm$ 6.58
Model group	218.32 $\pm$ 12.57 ^a	325.76 $\pm$ 20.98 ^a	23.66 $\pm$ 1.91 ^a
Positive control group	109.61 $\pm$ 11.34 ^b	169.17 $\pm$ 12.39 ^b	63.35 $\pm$ 5.47 ^b
Lonicerin low dose group	194.04 $\pm$ 16.59 ^{bc}	287.59 $\pm$ 20.34 ^{bc}	38.91 $\pm$ 4.06 ^{bc}
Lonicerin middle dose group	157.26 $\pm$ 11.94 ^{bcd}	236.82 $\pm$ 21.32 ^{bcd}	52.67 $\pm$ 4.87 ^{bcd}
Lonicerin high dose group	113.54 $\pm$ 16.13 ^{bde}	182.54 $\pm$ 14.62 ^{bde}	63.19 $\pm$ 5.43 ^{bde}
F value	182.581	336.666	162.138
P value	0.000	0.000	0.000

Note: compared with the control group, ^a $P < 0.05$; compared with the model group, ^b $P < 0.05$; compared with the positive control group, ^c $P < 0.05$; compared with the lonicerin low dose group, ^d $P < 0.05$; compared with the lonicerin middle dose group, ^e $P < 0.05$.

2.3 忍冬苷对脓毒症大鼠肝脏指数以及肝组织形态学变化的影响

与对照比较,模型组大鼠肝脏指数显著升高($P<0.05$);阳性对照组与忍冬苷各剂量组大鼠肝脏指数比模型显著降低($P<0.05$),且忍冬苷各剂量组间具有剂量效应($P<0.05$);与阳性对照组比较,忍冬苷低、中剂量组大鼠肝脏指数显著升高($P<0.05$);忍冬苷高剂量组肝脏指数变化无显著差异($P>0.05$)。见表3。HE染色结果可知,对照组肝组织结构正常,细胞排列整齐有序,无病变现象发生;模型组大鼠肝组织内出现明显病灶,肝细胞水肿变性,大量炎性细胞浸润;忍冬苷低、中剂量组仍可见病灶和水肿,但面积较模型组明显缩小,炎性细胞较少;阳性对照组与忍冬苷高剂量组肝细胞结构趋于正常,仅有少量炎性细胞浸润,未发现病灶。见图1。

2.4 忍冬苷对脓毒症大鼠肝功能指标的影响

模型组大鼠肝组织中AST、ALT活性相较于对照组显著增加($P<0.05$);阳性对照组与忍冬苷各剂量组大鼠肝组织中AST、ALT活性比模型组显著降低($P<0.05$),且随着忍冬苷剂量的增加,AST、ALT活性逐渐降低($P<0.05$);与阳性对照组比较,忍冬苷低剂量、忍冬苷低剂量M组大鼠肝组织中AST、

表3 各组大鼠肝脏指数的比较($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Table 3 Comparison of liver index of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Groups	Liver index(%)
Control group	5.11± 0.33
Model group	12.94± 1.12 ^a
Positive control group	6.82± 0.59 ^b
Lonicerin low dose group	10.36± 1.03 ^{bc}
Lonicerin middle dose group	8.72± 0.96 ^{bcd}
Lonicerin high dose group	6.91± 0.77 ^{bde}
F value	111.434
P value	0.000

Note: compared with the control group, ^a $P<0.05$; compared with the model group, ^b $P<0.05$; compared with the positive control group, ^c $P<0.05$; compared with the lonicerin low dose group, ^d $P<0.05$; compared with the lonicerin middle dose group, ^e $P<0.05$.

ALT活性显著增加($P<0.05$);忍冬苷高剂量组上述指标变化无显著差异($P>0.05$)。结果见表4。

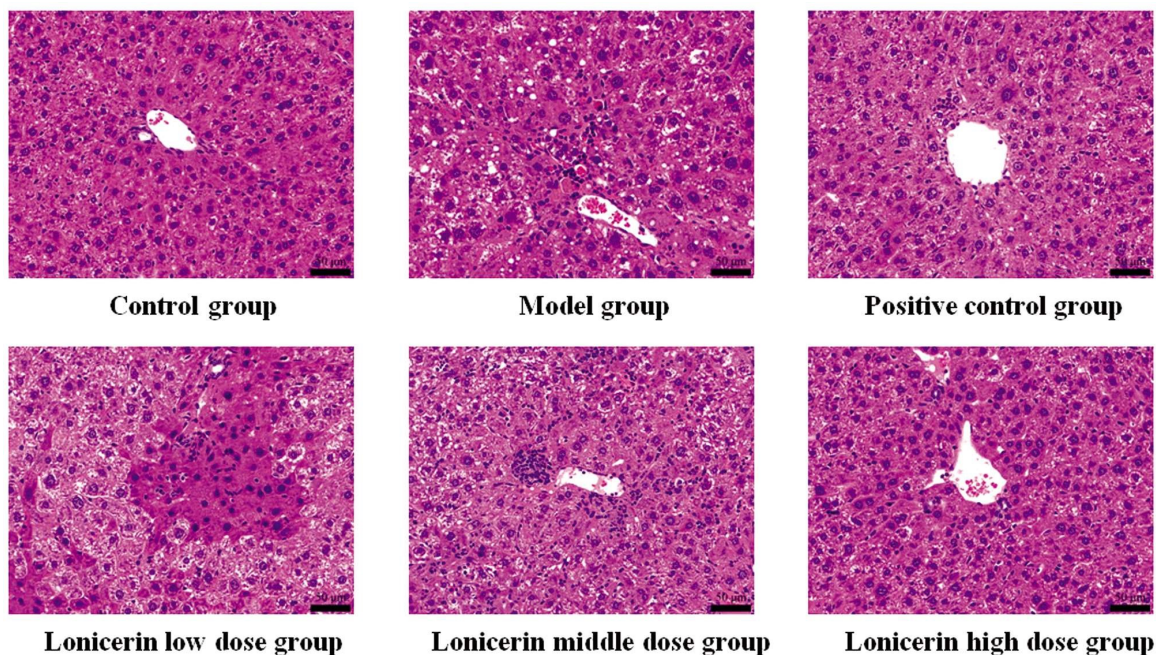


图1 各组大鼠肝组织病理学变化

Fig.1 Histopathology changes of liver in rats of each group

2.5 忍冬苷对脓毒症大鼠肝组织中HMGB1、TLR4、NF-κB蛋白表达的影响

模型组大鼠肝组织中HMGB1、TLR4、NF-κB表达与对照组相比明显上升($P<0.05$);阳性对照组与忍冬苷各剂量组大鼠肝组织中HMGB1、TLR4、NF-κB表达与模型组相比明显下降($P<0.05$),且随着忍冬苷剂量的增加,HMGB1、TLR4、NF-κB蛋白表达逐渐降低($P<0.05$);忍冬苷中、低剂量组大鼠肝组织中HMGB1、TLR4、NF-κB表达相比于地塞米松组明显上调($P<0.05$);忍冬苷高剂量组上述指标变化无显著差异($P>0.05$)。结果见图2、表5。

3 讨论

脓毒症是宿主对感染的反应失调而致的危及生命的器官功能障碍,已然成为危重症患者死亡的主要原因^[15,16],其病理机制非常复杂,目前研究表明,机体内抗炎-促炎反应失衡、氧化应激、机体免疫调节以及凝血功能异常、基础代谢异常都会导致脓毒症的发生^[17,18]。脓毒症严重时导致多种器官功能发生障碍,其中肝功能异常是脓毒症预后死亡率居高不下的主要原因^[19,20]。本研究结果显示,脓毒症大鼠肝组织出现明显病灶,肝细胞水肿变性,大量炎性细胞浸润;炎性因子TNF-α、IL-6表达上升以及肝功能指标AST、ALT活性增加,提示脓毒症发生

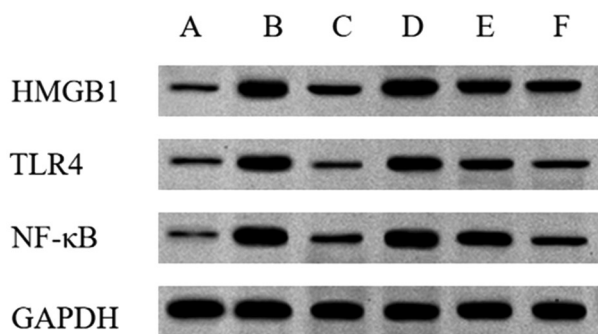


图2 各组大鼠肝组织中 HMGB1、TLR4、NF-κB 蛋白表达

Fig.2 Expression of HMGB1, TLR4 and NF-κB protein in liver tissue of rats in each group

Note: A: Control group; B: Model group; C: Positive control group;
D: Lonicerin low dose group; E: Lonicerin middle dose group;
F: Lonicerin high dose group.

时,肝组织受损,大量炎性细胞浸润,炎性因子 TNF-α、IL-6 被大量释放,IL-10 显著减少,导致肝功能异常。研究显示^[21,22],脓毒症发生过程中也伴随着氧化应激的发生,本研究中脓毒症模型大鼠血清中 MDA 含量升高、SOD 活性下降证实了这一结果。

忍冬苷已被证实具有多种药理活性,比如抗炎、抗氧化、抗菌以及抗细胞凋亡等,对多种器官具有保护作用^[23]。本研究中,低、中、高剂量忍冬苷干预后的脓毒症大鼠血清中炎性因子 TNF-α、IL-6 含量逐渐减少,MDA 含量减少,SOD 活性升高;肝组织中病灶面积逐渐缩小以及细胞水肿程度降低,炎性细胞的浸润也明显减少,肝功能指标也逐渐趋向正常水平,且忍冬苷高剂量组这些指标的变化与其阳性药物地塞米松趋于一致,表明忍冬苷与地塞米松一样能够有效改善由脓毒症引起的炎症反应和氧化应激,减轻肝损伤,对肝脏具有保护作用,刘芳^[23]等人的研究结果佐证了本文的结论。

表5 各组大鼠肝组织中 HMGB1、TLR4、NF-κB 蛋白表达的比较($\bar{x} \pm s$, n=10)Table 5 Comparison of HMGB1, TLR4 and NF-κB protein expression in liver tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s$, n=10)

Groups	HMGB1	TLR4	NF-κB
Control group	0.12± 0.01	0.15± 0.02	0.21± 0.02
Model group	1.04± 0.12 ^a	0.91± 0.10 ^a	1.23± 0.11 ^a
Positive control group	0.29± 0.02 ^b	0.27± 0.02 ^b	0.43± 0.05 ^b
Lonicerin low dose group	0.91± 0.09 ^{bc}	0.72± 0.07 ^{bc}	1.05± 0.11 ^{bc}
Lonicerin middle dose group	0.76± 0.06 ^{bcd}	0.57± 0.06 ^{bcd}	0.72± 0.09 ^{bcd}
Lonicerin high dose group	0.32± 0.03 ^{bde}	0.31± 0.02 ^{bde}	0.49± 0.06 ^{bde}
F value	311.040	265.104	237.856
P value	0.000	0.000	0.000

Note: compared with the control group, ^a $P < 0.05$; compared with the model group, ^b $P < 0.05$; compared with the positive control group, ^c $P < 0.05$; compared with the lonicerin low dose group, ^d $P < 0.05$; compared with the lonicerin middle dose group, ^e $P < 0.05$.

HMGB1/TLR4/NF-κB 信号通路作为体内调控炎症反应的重要通路,参与机体炎症损伤,研究表明,抑制该通路激活,能够减轻炎症反应,改善脓毒症大鼠器官功能障碍^[24,25]。脓毒症发生后,机体内炎症刺激后的受损细胞能够主动或被动的分泌 HMGB1, HMGB1 激活巨噬细胞表面的 TLR4,诱导 NF-κB 信号通路激活,导致机体内炎性因子如 TNF-α、IL-6 等大量释放,引起机体过度炎症反应,造成肠道功能或肝功能障碍^[26,27]。因而, HMGB1/TLR4/NF-κB 信号通路可能是脓毒症肝损伤的一个治疗靶点。本研究中脓毒症模型大鼠肝组织中 HMGB1、TLR4、NF-κB 蛋白表达显著上升,提示 HMGB1/TLR4/NF-κB 信号通路参与脓毒症肝损伤过程,与既往研究^[26]一致。而与模型组比较,忍冬苷各剂量组随剂量升高大鼠肝组织中 HMGB1、TLR4、NF-κB 蛋白表达逐渐下降,表明忍冬苷可能是通过抑 HMGB1、TLR4、NF-κB 的表达,改善脓毒症肝损伤。

综上所述,忍冬苷能够减轻炎症反应,抑制氧化应激,改善肝功能指标,在脓毒症肝损伤中发挥作用,可能与下调 HMGB1/TLR4/NF-κB 信号通路有关,但其具体机制还有待进一步研究。

参考文献(References)

[1] Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign

Bundle: 2018 Update[J]. Crit Care Med, 2018, 46(6): 997-1000

- [2] 李依,周平,邓磊. 血清 UCP2 水平对脓毒症诊断和预后评估的临床价值[J]. 中国实验诊断学, 2023, 27(3): 297-300
- [3] 李红兵,李媛,王武石,等. 胆碱能抗炎通路对脓毒症大鼠早期炎症与免疫反应具有负向调控作用[J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(5): 647-653
- [4] 沈雷兵,金善良,邵静,等. 不同浓度右美托咪定对脓毒症大鼠炎性因子、OCT 和 STAT3 的影响及肝损伤保护机制[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(3): 246-250
- [5] 赵广明,胡占升. 脓毒症肝损伤的发病机制与治疗研究进展 [J]. 解放军医学杂志, 2019, 44(6): 515-520
- [6] Lelubre C, Vincent JL. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis[J]. Nat Rev Nephrol, 2018, 14(7): 417-427
- [7] 王丽辉,孙治霞,索红亮,等. 基于 HMGB1/TLR4/NF-κB 通路探讨桃仁承气汤调节肠源性脓毒症大鼠肠道肌电活动及微环境稳态的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(12): 78-84
- [8] Lee JH, Han Y. Antiarthritic effect of lonicerin on Candida albicans arthritis in mice[J]. Arch Pharm Res, 2011, 34(5): 853-859
- [9] Gu LZ, Sun H. Lonicerin prevents inflammation and apoptosis in LPS-induced acute lung injury[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2020, 25(1): 480-497

- [10] 王凯,刘双,李蒙,等. 忍冬叶化学成分及其保肝活性研究[J]. 中草药, 2022, 53(8): 2285-2291
- [11] 占珠琴, 白海涛. 不同剂量地塞米松对脓毒症肾损伤大鼠血管紧张素 II 及其受体、NO 水平变化的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2021, 26(9): 995-1004
- [12] Lima GC, Yag V, Mt DSS, et al. Hepatoprotective effect of essential oils from hyptis crenata in sepsis-induced liver dysfunction[J]. J Med Food, 2018, 21(7): 709-715
- [13] 任辉邦, 张斌, 尹启超, 等. 山姜素通过 PI3K/Nrf2/HO-1 通路减少炎症和氧化应激反应改善盲肠结扎和穿孔诱导的脓毒症大鼠的急性肺损伤[J]. 免疫学杂志, 2021, 37(7): 575-583
- [14] 兰戴天, 何力, 李茂德, 等. 松果菊苷改善脓毒症大鼠的肝损伤和炎症反应与激活 Nrf 通路相关 [J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(4): 428-432, 438
- [15] Lü Q, Xing Y, Liu J, et al. Lonicerin targets EZH2 to alleviate ulcerative colitis by autophagy-mediated NLRP3 inflammasome inactivation[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(9): 2880-2899
- [16] 向弘利, 刘玉新. 基于 ICU 严重脓毒症患者死亡危险因素的系统回顾和 Meta 分析[J]. 创伤外科杂志, 2022, 24(8): 580-588
- [17] Polat G, Ugan RA, Cadirci E, et al. Sepsis and septic shock: Current treatment strategies and new approaches[J]. Eurasian J Med, 2017, 49 (1): 53-58
- [18] Zhang Y, Wang L, Meng L, et al. Sirtuin 6 overexpression relieves sepsis-induced acute kidney injury by promoting autophagy [J]. Cell Cycle, 2019, 18(4): 425-436
- [19] Ghavimi H, Sheidaei S, Vaez H, et al. Metformin-attenuated sepsis-induced oxidative damages: a novel role for met-formin [J]. Iran J Basic Med Sci, 2018, 21(5): 469-475
- [20] 邵琰, 牟微娜, 俞莹莹. 山茱萸提取物经 COX-2/Nrf2 信号通路对脓毒症模型大鼠肝损伤的改善作用 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31(4): 308-313
- [21] 江勉君, 史忠亮, 毛凯凤, 等. 氧化应激在脓毒症中的发病机制[J]. 医学综述, 2020, 26(5): 856-860
- [22] Joffe J, Hellman J. Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction in Sepsis and Acute Inflammation [J]. Antioxid Redox Signal, 2021, 35 (15): 1291-1307
- [23] 刘芳, 舒积成, 潘景行, 等. 忍冬苷的合成及其对雷公藤甲素诱导肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 72-75
- [24] Jiang J, Chen Q, Chen X, et al. Magnesium sulfate ameliorates sepsis-induced diaphragm dysfunction in rats via inhibiting HMGB1/TLR4/NF- κ B pathway [J]. Neuroreport, 2020, 31 (12): 902-908
- [25] Sun Z, Nyanzu M, Yang S, et al. VX765 Attenuates Pyroptosis and HMGB1/TLR4/NF- κ B Pathways to Improve Functional Outcomes in TBI Mice[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 7879629
- [26] 李徽徽, 仇大鹏, 高琴, 等. 选择性激动黑皮质素 4 型受体(MC4R)通过 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号途径对抗大鼠脓毒症致急性肝损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(8): 1055-1059, 1064
- [27] 孙鹏, 陈敏, 张细六, 等. 虎杖苷通过调控 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路对脓毒症急性肺损伤的保护作用[J]. 浙江中医药大学学报, 2021, 45(7): 691-699

(上接第 3605 页)

- [25] YANG X J, SETO E. The Rpd3/Hda1 family of lysine deacetylases: from bacteria and yeast to mice and men [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9(3): 206-218
- [26] GNS H S, GR S, MURAHARI M, et al. An update on Drug Repurposing: Re-written saga of the drug's fate [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 110: 700-716
- [27] LÖSCHER W. Basic pharmacology of valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy [J]. CNS Drugs, 2002, 16(10): 669-694
- [28] GALLUZZI L, SENOVILLA L, VITALE I, et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance [J]. Oncogene, 2012, 31 (15): 1869-1883
- [29] CONG J, WANG Y, ZHANG X, et al. A novel chemoradiation targeting stem and nonstem pancreatic cancer cells by repurposing disulfiram[J]. Cancer Lett, 2017, 409: 9-19
- [30] FIORELLI A, VICIDOMINI G, DI DOMENICO M, et al. Vascular endothelial growth factor in pleural fluid for differential diagnosis of benign and malignant origin and its clinical applications [J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2011, 12(3): 420-424