中图分类号:R965 文献标志码:A 文章编号:1006－4931(2025)14－0042－04
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2025.14.010

芝麻酚对对乙酰氨基酚致肝损伤模型小鼠的保护作用及其机制*

徐欣雅,谢允东△

(陕西中医药大学药学院,陕西 咸阳 712046)

摘要:目的 研究芝麻酚对肝损伤模型小鼠的影响。**方法** 将60只KM小鼠随机分为对照组[等体积0.5%羧甲基纤维素钠(CMC－Na)溶液],模型组(等体积0.5% CMC－Na溶液),谷胱甘肽组(200 mg/kg)及芝麻酚高、中、低剂量组(200,100,50 mg/kg),各10只。灌胃相应药物或CMC－Na,每天1次,连续7 d。末次给药后,腹腔注射对乙酰氨基酚(300 mg/kg)以复制肝损伤小鼠模型。以苏木精－伊红染色,观察肝组织病理形态;测定丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(AKP)、总胆红素(TBiL)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)水平;采用Western blot法测定核转录因子红系2相关因子2(Nrf2)、磷酸化与非磷酸化核因子κBp65(p－NF－κB p65/NF－κB p65)、肿瘤坏死因子－α(TNF－α)及白细胞介素6(IL－6)蛋白表达水平。**结果** 对照组小鼠肝细胞及细胞核结构均正常,边界清晰。模型组小鼠肝细胞肿胀,部分肝细胞核发生溶解。芝麻酚高、中、低剂量组小鼠肝细胞的肿胀和炎性细胞浸润程度减轻。与模型组比较,芝麻酚高、中、低剂量组小鼠血浆中ALT、TBiL、MDA水平,以及肝组织匀浆中IL－6、TNF－α蛋白表达水平均显著降低,Nrf2蛋白表达水平显著升高($P<0.05$或$P<0.01$);芝麻酚高、中剂量组小鼠血浆中SOD及AST水平均显著升高,p－NF－κBp65/NF－κBp65显著降低($P<0.05$或$P<0.01$);芝麻酚高剂量组小鼠血浆中CAT水平显著升高($P<0.01$)。**结论** 芝麻酚可调节对乙酰氨基酚诱导的肝损伤模型小鼠体内Nrf2/NF－κB信号通路,从而提高其抗氧化、抗炎活性的能力。

关键词:芝麻酚;对乙酰氨基酚;Nrf2/NF－κB信号通路;肝损伤;小鼠

Protective Effect and Mechanism of Sesamol on Acetaminophen－Induced Liver Injury Model Mice

XU Xinya, XIE Yundong

(College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, China 712046)

Abstract: Objective To investigate the effect of sesamol on liver injury in model mice. **Methods** A total of 60 KM mice were randomly divided into control group [equal volume of 0.5% carboxymethyl cellulose sodium (CMC－Na) solution], model group (equal volume of 0.5% CMC－Na solution), glutathione group (200 mg/kg), and high－dose, medium－dose and low－dose sesamol groups (200, 100, 50 mg/kg), with 10 mice in each group. The corresponding drugs or CMC－Na were administered by gavage once a day for 7 days. After the last administration, the acetaminophen (300 mg/kg) was intraperitoneally injected to replicate a liver injury mouse model. The pathological morphology of liver tissue was observed by hematoxylin－eosin staining. The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (AKP), total bilirubin (TBiL), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA) in plasma were determined. Protein expression levels of nuclear factor erythroid 2－related factor 2 (Nrf2), phosphorylated and non－phosphorylated nuclear factor－κB p65 (p－NF－κB p65/NF－κB p65), tumor necrosis factor－α (TNF－α), and interleukin－6 (IL－6) in the liver omogenate were determined by Western blotting. **Results** In the control group, hepatocytes and nuclear structures exhibited normal morphology with clear boundaries. In the model group, hepatocytes were swollen, and partial nuclear dissolution was observed. The degree of hepatocyte swelling and inflammatory cell infiltration was alleviated in the high－dose, medium－dose and low－dose sesamol group. Compared with those in the model group, the levels of ALT, TBiL and MDA in plasma, as well as the protein expression levels of IL－6 and TNF－α in liver homogenate were significantly decreased in the high－dose, medium－dose and low－dose sesamol groups ($P<0.05$ or $P<0.01$), while the protein expression level of Nrf2 was significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$). The plasma levels of SOD and AST in the high－dose and medium－dose sesamol groups were significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$) and the p－NF－κB p65/NF－κB p65 protein in the high－dose and medium－dose sesamol groups were significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). The plasma CAT level in the high－dose sesamol group was significantly increased ($P<0.01$). **Conclusion** Sesamol can regulate Nrf2/NF－κB signal pathway for acetaminophen－induced liver injury

*基金项目:陕西中医药大学科技创新人才体系建设计划项目[2024－LJRC－04]。

第一作者:徐欣雅,女,博士研究生,讲师,研究方向为药物安全性评价,(电子信箱)1027483714@qq.com。

△通信作者:谢允东,男,博士研究生,副教授,研究方向为药物减毒机制,(电子信箱)eng522@126.com。

in mice, to enhance antioxidant and anti - inflammatory activities.

Key words: sesamol; acetaminophen; Nrf2 / NF - κB signaling pathway; liver injury; mice

药物性肝损伤是临床常见的药品不良反应，对乙酰氨基酚（APAP）是临床常用的解热镇痛药物，但摄入过量可造成急性肝损伤芝麻酚属酚类化合物，具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、调节细胞能量代谢等多种生物活性[1-2]。有研究显示，芝麻酚对四氯化碳、高脂饮食、重金属、中药等多种因素引起的肝损伤均具有显著保护作用，其机制涉及抑制氧化应激和炎性因子相关基因表达[3-6]。然而芝麻酚是否对 APAP 诱导的肝损伤具有保护作用，目前尚不明确。为此，本研究中拟探讨芝麻酚对模型小鼠肝损伤的保护作用及其作用机制，以为抗药物性肝损伤的作用机制研究提供新的思路。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试药及动物

仪器：AUC480 型全自动生化分析仪（美国 Beckman Coulter 公司）；ELX - 800 型酶标仪（美国 Bio Tek 公司）；DS - F12 型显微拍照系统（日本 Nikon 公司）；DYY - 7C 型电泳仪（北京六一仪器厂）；H - 2050R 型超速冷冻离心机（湖南湘仪实验仪器开发有限公司）。

试药：芝麻酚（批号为 FC130005，含量 ≥ 98%）；APAP（批号为 MOSNR5NE，含量 ≥ 98%），均购自上海萨恩化学技术有限公司；苏木精（北京索莱宝科技有限公司，批号为 517 - 28 - 2）；伊红（山东西亚化学工业有限公司，批号为 15086 - 94 - 9）；超氧化物歧化酶（SOD）试剂盒（批号为 20211216）、过氧化氢酶（CAT）试剂盒（批号为 20211212）、丙二酮（MDA）试剂盒（批号为 20211219），均购自南京建成生物工程研究所；核转录因子红系 2 相关因子 2（Nrf2）抗体（批号为 M10092135）、核因子 κB p65（NF - κB p65）抗体（批号为 M10131273）、p - NF - κB p65 抗体（批号为 M10262169）、肿瘤坏死因子 α（TNF - α）抗体（批号为 M10081581）、白细胞介素 6（IL - 6）抗体（批号为 M08302841）、β - actin 抗体（批号为 M10091372）、组蛋白 H3（HistoneH3）抗体（批号为 M07020984）、羊抗兔 IgG - HRP（批号为 15A091）、全蛋白提取试剂盒（批号为 20A081）、核蛋白提取试剂盒（批号为 12A081）、BCA 蛋白浓度测定试剂盒（批号为 25A101），均购自沈阳万类生物科技有限公司。

动物：SPF 级健康 KM 小鼠，60 只，雄性，5 周龄，体质量 20 ± 2 g，均购自成都达硕实验动物有限公司，动物生产许可证号 SCXK（川）2022 - 030，动物使用许可证号 SYXK（陕）2017 - 004。动物实验经陕西中医药大学动物伦理委员会的批准。动物饲养于陕西中医药大学 SPF 级实验室中，相对湿度 45% ~ 65%，温度 22 ~ 24 ℃，12 h / 12 h 明暗交替。

1.2 方法

分组、给药与复制模型：60 只 KM 小鼠随机分为对照组［等体积 0.5% 羧甲基纤维素钠（CMC - Na）溶液］、模型组（等体积 0.5% CMC - Na 溶液）、谷胱甘肽（GSH）组（200 mg / kg），芝麻酚低、中、高剂量组（50，100，200 mg / kg），各 10 只。每日上午 9:00 灌胃 1 次，连续 7 d。末次给药后，腹腔注射 APAP（300 mg / kg）以复制肝损伤小鼠模型。对照组小鼠予腹腔注射生理盐水，24 h 后处死小鼠。

1.3 观察指标

肝脏组织病理形态：取小鼠肝脏组织，剪取部分固定于 4% 多聚甲醛溶液中 72 h 后依次进行石蜡包埋、切片、苏木精 - 伊红（HE）染色、封片，显微镜下观察并拍照。

生化指标：小鼠眼眶取血至抗凝管中，4 ℃下 3 500 r / min 离心 15 min，取血浆。采用全自动生化测定仪分别测定肝功能指标丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、碱性磷酸酶（ALP）、总胆红素（TBiL）水平。按试剂盒说明书分别测定抗氧化指标 SOD、CAT、MDA 水平。

蛋白表达水平：采用 Western blot 法。取小鼠肝脏组织，液氮研磨，加入蛋白裂解液，研成匀浆，冰上静置，4 ℃、12 000 r / min 离心 10 min，分离蛋白质抽提物。另取肝脏组织，分别加入细胞浆蛋白抽提试剂和细胞核蛋白抽提试剂，冰上静置，4 ℃、12 000 r / min 离心 10 min，分离细胞核蛋白质抽提物。采用 BCA 法测定蛋白含量，经 SDS - PAGE 电泳后，转膜，封闭，用 5% 脱脂奶粉稀释—抗（1∶500，*V* / *V*），内参稀释比例为 1∶1 000（*V* / *V*），4 ℃下孵育过夜；TBST 清洗 3 次，加入羊抗兔 IgG - HRP 二抗（1∶5 000，*V* / *V*），37 ℃下孵育 45 min，加入 ECL 发光剂，于暗室中曝光，扫描胶片，用 Gel - Pro - Analyzer 软件分析目标条带的光密度值，即为蛋白表达水平。

1.4 统计学处理

采用 Graphpad Prism 8.3 软件分析和绘制检测结果柱状图。计量资料以 $\overline{X} \pm s$ 表示，多组间比较行单因素方差分析。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝脏组织病理学形态

对照组小鼠肝细胞及细胞核结构均正常，边界清晰。与对照组比较，模型组小鼠肝细胞肿胀，部分核溶解，GSH 组小鼠肝细胞的肿胀减轻，受损状况明显改

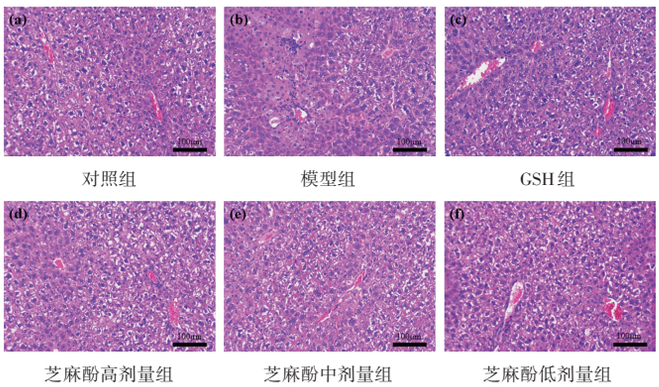


图1 小鼠肝脏组织病理形态(HE, ×200)

Fig. 1 Pathological morphology of liver tissue of mice (HE, ×200)

善。芝麻酚高、中、低剂量组小鼠肝细胞肿胀减轻,炎症细胞浸润减少,肝细胞的损伤状况明显改善。详见图1。

2.2 肝功能指标

与对照组比较,模型组小鼠血浆中AST、ALT、TBiL水平均显著升高($P<0.05$或$P<0.01$);与模型组比较,GSH组和芝麻酚高、中、低剂量组小鼠血浆中ALT、TBiL水平均显著降低($P<0.01$);GSH组和芝麻酚高、中剂量组小鼠血浆中AST水平均显著降低($P<0.01$)。详见表1。

表1 各组小鼠肝功能指标比较($\bar{X}\pm s$, $n=10$)

Tab. 1 Comparison of liver function indexes of mice in each group($\bar{X}\pm s$, $n=10$)

组别	AST(U/L)	ALT(U/L)	AKP(U/L)	TBiL(μmol/L)
对照组	108.20±17.92	35.80±5.61	131.33±39.53	1.30±1.42
模型组	3 054.50±1 639.52$^{\#\#}$	5 864.67±948.55$^{\#\#}$	153.67±54.46	6.32±6.15$^{\#}$
GSH组	177.20±80.91**	187.20±138.30**	169.00±62.90	2.40±3.00**
芝麻酚高剂量组	157.20±33.99**	104.00±70.26**	139.20±21.75	1.00±0.40**
芝麻酚中剂量组	1 128.00±1 144.26**	2 329.20±630.05**	138.00±34.68	3.52±3.33**
芝麻酚低剂量组	3 196.00±1 250.60	3 590.67±865.37**	120.67±37.00	2.13±1.27**

注:与对照组比较,$^{\#}P<0.05$,$^{\#\#}P<0.01$;与模型组比较,$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$。表2、图2同。

Note: Compared with those in the control group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$. Compared with those in the model group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ (for Tab. 1 - 2 and Fig. 2).

2.3 抗氧化指标

与对照组比较,模型组小鼠血浆中MDA水平均显著升高,SOD、CAT水平均显著降低($P<0.01$);与模型组比较,GSH组和芝麻酚高、中、低剂量组小鼠血浆中MDA水平显著降低,GSH组和芝麻酚高、中剂量组小鼠血浆中SOD水平显著升高,GSH组和芝麻酚高剂量组小鼠血浆中CAT水平显著升高($P<0.05$或$P<0.01$)。详见表2。

表2 各组小鼠抗氧化指标比较($\bar{X}\pm s$, $n=10$)

Tab. 2 Comparison of antioxidant indicators of mice in each group($\bar{X}\pm s$, $n=10$)

组别	SOD(U/mL)	CAT(U/mL)	MDA(mmol/mg)
对照组	127.34±11.72	14.50±0.86	7.06±0.42
模型组	72.66±4.69$^{\#\#}$	5.97±0.92$^{\#\#}$	13.09±3.82$^{\#\#}$
GSH组	107.03±4.49*	10.28±0.86**	6.97±0.58**
芝麻酚高剂量组	117.00±6.25**	13.33±1.39**	4.76±0.94**
芝麻酚中剂量组	104.00±5.27*	7.69±0.58	9.12±1.33**
芝麻酚低剂量组	85.55±12.30	6.17±0.58	7.88±1.67**

2.4 蛋白表达水平

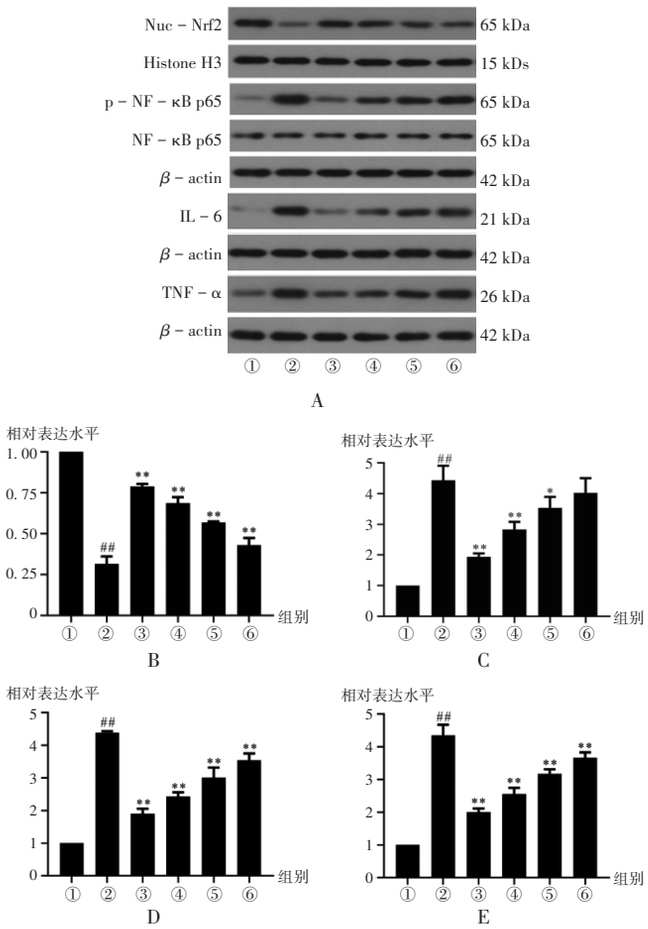
与对照组比较,模型组小鼠肝组织匀浆中Nrf2蛋白表达水平显著降低,IL-6、TNF-α水平及p-NF-κB p65/NF-κB p65均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,GSH组和芝麻酚高、中、低剂量组小鼠肝组织匀浆中Nrf2蛋白表达水平显著升高,IL-6、TNF-α水平均显著降低,GSH组和芝麻酚高、中剂量组小鼠肝组织匀浆中p-NF-κB p65/NF-κB p65均显著降低($P<0.05$或$P<0.01$)。详见图2。

3 讨论

APAP在肝脏代谢过程中转化为*N*-乙酰对苯醌亚胺(NAPQI),进而对肝脏造成损害[7]。尽管肝细胞中GSH可与NAPQI结合,但APAP长期或过量使用会导致生物转化过程饱和,使NAPQI大量堆积,且过量消耗GSH,导致氧化应激和线粒体功能障碍,进而引发肝细胞坏死和炎性反应。近期研究表明,APAP诱导肝细胞产生大量ROS并积累,超过了抗氧化系统的清除能力,导致系统失衡,引起氧化应激[8]。氧化应激也可能通过免疫激活释放炎性因子直接介导肝细胞损伤[9]。芝麻酚显著的抗氧化和抗炎作用在多种肝损伤模型中已得到广泛验证。

本研究结果显示,芝麻酚干预模型小鼠后AST和ALT水平显著降低,表明芝麻酚可以改善APAP引起的肝损伤,这一结果也得到了肝脏组织病理学形态检查的证实。Nrf2/NF-κB信号通路是肝损伤保护的有效途径[10]。Nrf2是调节细胞氧化损伤的关键转录因子[11-12],可与ARE结合调节抗氧化剂的表达,Nrf2的激活可以诱导下游抗氧化酶的表达。研究结果表明,芝麻酚干预模型小鼠后,以上指标均发生显著逆转,表明芝麻酚可以改善APAP诱导的小鼠氧化应激,这可能与上调Nrf2蛋白表达后抗氧化酶的增强有关[13-14]。NF-κB与体内炎性反应密切相关[15-16]。芝麻酚干预模型小鼠后p-NF-κB p65、TNF-α和IL-6蛋白表达水平均显著下调,表明芝麻酚对APAP诱导的炎性反应具有显著的抑制作用。

综上所述,芝麻酚能激活APAP诱导的肝损伤模型小鼠体内Nrf2/NF-κB信号通路,上调抗氧化酶SOD、



①对照组 ②模型组 ③GSH 组 ④芝麻酚高剂量组 ⑤芝麻酚中剂量组 ⑥芝麻酚低剂量组

A. 蛋白表达条带 B. Nuc – Nrf2 C. p – NF – κB p65 / NF – κB p65 D. IL – 6 E. TNF – α

图 2 小鼠肝保护信号通路相关蛋白的相对表达水平(n = 3)

①Control group ②Model group ③GSH group ④High – dose sesamol group ⑤Medium – dose sesamol group ⑥Low – dose sesamol group

A. Protein expression band B. Nuc – Nrf2 C. p – NF – κB p65 / NF – κB p65 D. IL – 6 E. TNF – α.

Fig. 2 Relative expression levels of proteins related to liver protection signaling pathway in mice (n = 3)

CAT及下调TNF – α和IL – 6的表达,抑制氧化应激和炎性反应。

参考文献

[1] 马丛丛,许继取,赵思琪,等. 芝麻酚生物活性的研究进展[J]. 中国食物与营养,2019,25(9):62 – 65.

[2] 李樱楠,张雨轩,刘海涛,等. 芝麻酚抗肝损伤作用研究进展[J]. 现代中医药,2024,44(5):6 – 9.

[3] SINGH N, KHULLAR N, KAKKAR V, et al. Hepatoprotective effects of sesamol loaded solid lipid nanoparticles in carbon tetrachloride induced sub – chronic hepatotoxicity in rats[J]. Nanotechnology Weekly, 2016, 31(5): 520 – 532.

[4] BAŞ H, APAYDIN FG, KALENDER S, et al. Lead nitrate and cadmium chloride induced hepatotoxicity: Protective effects of sesamol on biochemical indices and pathological changes[J]. Journal of Food Biochemistry, 2021, 45(7): e13769.

[5] ZHENG WY, SONG ZY, LI S, et al. Protective Effects of Sesamol against Liver Oxidative Stress and Inflammation in High – Fat Diet – Induced Hepatic Steatosis[J]. Nutrients, 2021, 13(12): 4484.

[6] 谢允东,王小平,何世鹏. 芝麻酚对模型小鼠肝损伤的改善作用[J]. 中国药业,2021,30(18):37 – 41.

[7] 潘家琪,宋丹军,李鹏旭,等. 对乙酰氨基酚肝毒性机制与防治研究新进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2014,28(4):618 – 624.

[8] MIETTINEN TP, BJÖRKLUND M. NQO2 is a reactive oxygen species generating off – target for acetaminophen[J]. Molecular Pharmaceutics, 2014, 11(12): 4395 – 4404.

[9] THIDA M, LI B, ZHANG XY, et al. Echinacoside alleviates acetaminophen – induced liver injury by attenuating oxidative stress and inflammatory cytokines in mice[J]. Journal Applied Biomedicine, 2021, 19(2): 105 – 112.

[10] 王文萱,付向磊,戚 曼,等. 红花提取物通过调控 Nrf2 / STAT3 / NF – κB 信号通路对酒精性肝病的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理,2024,35(8):1132 – 1141.

[11] ALONSO – PIÑEIRO JA, GONZALEZ – ROVIRA A, SÁNCHEZ – GOMAR I, et al. Nrf2 and Heme Oxygenase – 1 involvement in atherosclerosis related oxidative stress[J]. Antioxidants, 2021, 10(9): 1463.

[12] HUANG TI, HSIEH CL. Effects of acupuncture on oxidative stress amelioration via Nrf2 / ARE – related pathways in Alzheimer and Parkinson diseases[J]. Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine, 2021, 2021: 6624976.

[13] WANG HD, PAN LQ, SI LJ, et al. Effects of Nrf2 – Keap1 signaling pathway on antioxidant defense system and oxidative damage in the clams Ruditapes philippinarum exposure to PAHs[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 28(25): 33060 – 33071.

[14] TAVAKOLI R, TABESHPOUR J, ASILI J, et al. Cardioprotective effects of natural products via the Nrf2 signaling pathway[J]. Current Vascular Pharmacology, 2021, 19(5): 525 – 541.

[15] WULLAERT A, BONNET MC, PASPARAKIS M. NF – κB in the regulation of epithelial homeostasis and inflammation[J]. Cell Research, 2011, 21(1): 146 – 158.

[16] HAGIWARA S, IWASAKA H, HIDAKA S, et al. Neutrophil elastase inhibitor (sivelestat) reduces the levels of inflammatory mediators by inhibiting NF – κB [J]. Inflammation Research, 2009, 58(4): 198 – 203.

(收稿日期:2024 – 09 – 27;修回日期:2025 – 02 – 09)