

姜黄素对四氯化碳诱导大鼠急性肝损害的保护作用

隋菱¹, 郑静彬², 蔡国弟², 杜纪坤³, 李莉^{2*} (1. 辽宁中医药大学附属第二医院检验科, 辽宁 沈阳 110034; 2. 广东医科大学东莞校区科研管理中心, 广东 东莞 523808; 3. 深圳市宝安区沙井人民医院中心实验室, 广东 深圳 518104)

摘要: 目的 研究姜黄素对四氯化碳诱导的大鼠急性肝损伤的保护作用及其机制。方法 60只健康♂SD大鼠随机分成6组, 即正常对照组, 肝损伤模型组, 阳性药物对照水飞蓟素组(100 mg·kg⁻¹), 姜黄素低剂量组(25 mg·kg⁻¹), 姜黄素中剂量组(50 mg·kg⁻¹)和姜黄素高剂量组(100 mg·kg⁻¹)。隔天灌胃给药, 共30 d; 末次给药1 h后, 腹腔注射20 mg·kg⁻¹ CCl₄玉米油溶液(2 mL·kg⁻¹)造模, 禁食不禁水, 12 h后乌拉坦麻醉。取下腔静脉血和肝脏后, 分别检测大鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(AST)及天门冬氨酸氨基转移酶(ASL)的活性, 大鼠肝脏组织中血红素加氧酶 I (HO-1)及静脉血中HbCO的水平, 在体外测定姜黄素清除DPPH自由基及ABTS自由基的能力。结果 与正常对照组相比, 模型组血清中ALT、AST活性显著升高, 肝组织中HO-1活性及静脉血中HbCO的含量显著降低, 组织病理检查显示肝组织损伤明显增加。与模型组相比, 姜黄素各剂量组可不同程度的降低血清AST及ASL的活性, 增加肝脏组织中HO-1的活性及HbCO的水平, 组织病理检查显示肝损伤有不同程度减轻。并且姜黄素具有清除DPPH自由基及ABTS自由基的能力。结论 姜黄素对CCl₄诱导的大鼠急性肝损伤具有一定保护作用, 其机制可能与其自身抗氧化能力及诱导HO-1及HbCO有关。

关键词: 姜黄素; 四氯化碳; 大鼠; 急性肝损伤

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2017)11-1517-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.11.003

引用本文: 隋菱, 郑静彬, 蔡国弟, 等. 姜黄素对四氯化碳诱导大鼠急性肝损害的保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(11): 1517-1521.

Protective Effects of Curcumin on CCl₄-induced Acute Liver Injury in Rats

SUI Ling¹, ZHENG Jingbin², CAI Guodi², DU Jikun³, LI Li^{2*} (1. Clinical Laboratory, Liaoning University Second Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China; 2. Scientific Research Center, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China; 3. Central Medical Laboratory, Shenzhen Baoan Shajing People's Hospital, Shenzhen 518104, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the protective effect of curcumin on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats and its underlying mechanism. **METHODS** Sixty ♂ SD rats were randomly divided into 6 groups as normal control group, model group, positive control silymarin group(100 mg·kg⁻¹), curcumin low dose group (25 mg·kg⁻¹), curcumin middle dose group (50 mg·kg⁻¹), curcumin high dose group (100 mg·kg⁻¹). They were given relevant medicines (i.g.) every other day for 30 d. One hours after the final treatment, CCl₄ dissolved in corn oil (20 mg·kg⁻¹) was administrated intraperitoneally (i.p.) to each group except control group. After the completion of the experiment, food and water were removed 12 h prior to sacrifice. The rats were anesthetized by urethane, and blood was collected from the hepatic portal vein. The activities of AST, ALT and HO-1, the HbCO content in the blood and the scavenging effects of curcumin on DPPH and ABTS were determined. **RESULTS** Compared with normal control group, the activities of ALT and AST in serum of model group were significantly increased, and the activity of HO-1 in liver tissue and the content of HbCO in venous blood were significantly decreased. Histopathological examination showed that liver injury was increased significantly. Compared with model group, pretreatment of rats with different concentration of curcumin decreased the serum levels of ALT and AST, increased the HO-1 activity and the content of HbCO in the liver, and the liver injury was alleviated in different degrees by histopathological examination. And curcumin exhibited strong scavenging effects on DPPH and ABTS free radicals. **CONCLUSION** The study demonstrates that curcumin has a potent hepatoprotective function against CCl₄-induced hepatic injuries in rats through the antioxidant effects and the inducing HO-1 and HbCO.

KEY WORDS: curcumin; CCl₄; rats; acute liver injury

姜黄素是从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的一种脂溶性酚类化合物。研究表明, 姜黄素的结构中含有酚羟基, 能通过疏水性作用同血浆白

蛋白结合运输, 易于渗透细胞质, 富集于膜性结构如质膜、内质网和核膜, 在细胞膜发生脂质过氧化反应时, 其酚羟基可以发生氧化反应, 能有

基金项目: 广东省自然科学基金(2015A030310283); 广东省自然科学基金(2015A030310404)

作者简介: 隋菱, 女, 主管技师 Tel: (024)86802993 E-mail: 24898897@qq.com *通信作者: 李莉, 女, 副研究员 Tel: (0769)22896547 E-mail: china_lovelyli@hotmail.com

效终止自由基反应,发挥抗氧化、抗肿瘤、抗炎、降血脂和抗微生物等药理作用^[1-2],成为近年来天然药物中的研究热点。

血红素加氧酶(heme oxygenase, HO)是机体内血红素生物分解代谢过程中重要的限速酶,血红素在HO的作用下,生成等摩尔数的CO、铁和胆绿素,胆绿素在胆绿素还原酶的催化下还原为胆红素。目前发现HO有3种同工酶,包括氧应激诱导型HO-1,组成型HO-2及尚未明确的HO-3。HO-1又称热休克蛋白32,作为一种内源性抗氧化酶,在抗氧化损伤防御机制中起着关键作用,在抗肝损伤过程中发挥着重要的作用^[3]。但是目前关于姜黄素在四氯化碳诱导的大鼠急性肝损伤中如何调节HO-1实现保护作用尚未见报道。本实验观察了姜黄素对四氯化碳诱导的大鼠急性肝损伤的保护作用及其机制。

1 仪器与试剂

Synergy2多功能酶标仪(美国Biotek);5415R高速离心机(德国Eppendorf)。

四氯化碳(批号:C5010)、姜黄素(批号:458377)、DPPH(批号:STBB0827V)、水飞蓟素(批号:S1009)购自美国Sigma公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒(批号:P0010,碧云天生物科技有限公司);丙氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(批号:20120309)、天门冬氨酸氨基转移酶(ASL)试剂盒(批号:20120911)均购于南京建成生物技术有限公司,氢氧化铵、硫酸钾(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);低亚硫酸钠(南京维之诚化学试剂有限公司)等均为分析纯。

清洁级成年♂SD大鼠由广州南方医科大学实验动物中心提供,实验动物合格证号:SYXK(粤)2016-0167,饲养于广东医科大学实验动物中心,实验动物使用许可证号:SYXK(粤)2015-0147,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2013-0008。

2 方法

2.1 动物分组、造模与给药

60只SD大鼠(体质量130~140g),♂,随机分为正常对照组、模型组、姜黄素低剂量组(25mg·kg⁻¹)、姜黄素中剂量组(50mg·kg⁻¹)、姜黄素高剂量组(100mg·kg⁻¹)和水飞蓟素阳性对照组,共6组,每组10只,隔天灌胃给药。姜黄素给药组分别按25,50,100mg·kg⁻¹姜黄素灌胃,阳性对照组按100mg·kg⁻¹水飞蓟素灌胃,正常对照组、

模型组按等体积生理盐水灌胃,共30d。各组末次给药1h后,模型组和姜黄素给药组腹腔注射20mg·kg⁻¹CCl₄玉米油(2mL·kg⁻¹),正常对照组腹腔注射等体积玉米油,禁食不禁水。12h后乌拉坦麻醉,下腔静脉取血,离心后取得血清,置于-20℃保存。采血后迅速摘除肝脏,用冷PBS缓冲液洗涤干净,滤纸吸干水分后,-80℃保存。

2.2 血清学指标检测

各组大鼠血清中转氨酶ALT及AST活性按试剂盒说明书进行测定。

2.3 肝脏病理检测

肝脏组织采用10%福尔马林固定,常规脱水浸蜡,石蜡包埋,5μm连续切片,脱蜡透明后HE染色,光镜下观察各组大鼠肝脏组织病理变化。

2.4 HO-1活性测定

用匀浆器将肝脏进行匀浆并超速离心(100000×g4℃离心60min),取上清液,作为胆绿素还原酶。根据HO-1降解血红素生成胆红素的原理来测HO-1活性^[4]。制备磷酸钾缓冲体系(0.1mol·L⁻¹,pH7.4),含50mol·L⁻¹血晶素、1mmol·L⁻¹MgCl₂、1mmol·L⁻¹6-磷酸葡萄糖、2mmol·L⁻¹NADPH、3U6-磷酸葡萄糖脱氢酶、2mg·mL⁻¹大鼠肝去微粒体后的胞浆蛋白。将待测微粒体蛋白样本加0.2mL磷酸钾缓冲体系中,避光于37℃反应1h后,迅速冰浴冷却终止反应,于464nm和535nm用双光束比色法测定吸光度。反应体系中以H₂O取代NADPH作为空白,胆红素的摩尔吸光系数为40L·mmol⁻¹·cm⁻¹)。HO-1的活性=(胆红素生成量/蛋白浓度)/时间,以nmol·mg⁻¹·h⁻¹表示。

2.5 血液中碳氧血红蛋白(HbCO)水平测定

CO在体内主要以HbCO的形式存在,故测定血液中HbCO含量可反映CO的生成水平;采用改良的双波长定量法测定血HbCO的浓度变化:取血0.1mL,加0.4mol·L⁻¹氢氧化铵20mL,混匀后加20mg低亚硫酸钠,混匀;10min内于538nm及578nm处测其吸光度,通过解联方程得出HbCO含量百分比(%)。

2.6 DPPH自由基清除能力测定

参考文献^[5-6]中的方法,并略作改动。取3.9mL浓度为10⁻⁴mol·L⁻¹的DPPH溶液和0.1mL不同浓度的姜黄素(1,10,100μmol·L⁻¹)进行反应,30min后于515nm处测吸光值A_i,同时以乙醇做空白,测其吸光值为A₀。由以下公式计算试样对DPPH

自由基的清除活性。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%)=(1-A_1/A_0)\times 100\%$$

2.7 ABTS 自由基清除能力测定

先将 0.89 mL 浓度为 $140 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的过硫酸钾溶液加入到 50 mL、 $7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ABTS 自由基溶液中, 4°C 过夜, 制备成为 ABTS 储备液。临用前将 ABTS 储备液进行稀释, 在 734 nm 下使其吸光值在 0.70 ± 0.02 , 制成 ABTS 工作液。将 0.1 mL 不同浓度的姜黄素溶液(1, 10, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)加入到 1.9 mL 的 ABTS 工作液中, 充分震荡混匀, 在 734 nm 下测定吸光值, 每隔 10 min 测一次, 持续 30 min。以上操作均在室温下避光进行。由以下公式计算试样对 ABTS 自由基的清除活性。

$$\text{清除率}(\%)=(1-\frac{A_1-A_2}{A_0})\times 100\%$$

其中, A_0 为待测试样由等体积水代替测定的吸光值; A_1 为添加试样的吸光值; A_2 为 ABTS 工作液由等体积水代替测定的吸光值。

2.8 统计学方法

本实验中的各项实验每组均重复 3 次以上, 数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 结果采用单因素方差分析和 ANOVA 检验统计分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果和分析

3.1 姜黄素对 CCl_4 所致大鼠急性肝损伤血清 AST 及 ASL 活性的影响

首先, 本研究检测了血清中转氨酶 AST 及 ASL 的活性, 以了解姜黄素对肝功能指标的影响。与正常对照组相比较, CCl_4 模型组血清中的 AST 及 ASL 的活性显著升高($P<0.05$), 而经姜黄素处

理后的大鼠可以显著降低 CCl_4 造成的 AST 及 ASL 活性升高, 且呈剂量依赖趋势。结果见表 1。

表 1 姜黄素对 CCl_4 所致大鼠肝损伤 ALT 及 AST 的影响
Tab. 1 Effects of curcumin on serum ALT and AST activities on CCl_4 -induced acute hepatic injury in rats

组别	ALT/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	AST/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$
正常对照组	70.32±9.33	86.73±5.89
模型组	207.50±12.56 ¹⁾	278.50±10.77 ¹⁾
姜黄素低剂量组	172.36±8.66 ²⁾	201.35±9.65 ²⁾
姜黄素中剂量组	123.56±6.22 ²⁾	152.36±7.56 ²⁾
姜黄素高剂量组	96.32±5.31 ²⁾	101.32±6.55 ²⁾
水飞蓟素组	89.66±7.23 ²⁾	90.56±11.32 ²⁾

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$.

3.2 姜黄素对 CCl_4 所致大鼠急性肝损伤肝脏组织病理的影响

HE 病理切片在显微镜下观察, 结果见图 1。正常对照组大鼠肝小叶结构完整清晰, 肝细胞排列整齐, 无坏死及脂肪变性(图 1A); 与正常对照组相比, CCl_4 模型组可见以中央静脉区为中心的大片状肝细胞坏死、肿胀、空泡及炎性细胞浸润, 大部分正常肝小叶结构破坏或消失, 肝组织损伤明显增加(图 1B)。阳性对照组肝细胞浊肿减轻, 炎性细胞浸润减少(图 1C)。经高、中、低剂量姜黄素处理后, 中心的大片状肝细胞坏死、肿胀、空泡及炎性细胞浸润均有不同程度的减少, 肝组织损伤均有不同程度的减轻(图 1D~F), 其中高剂量处理效果最好。

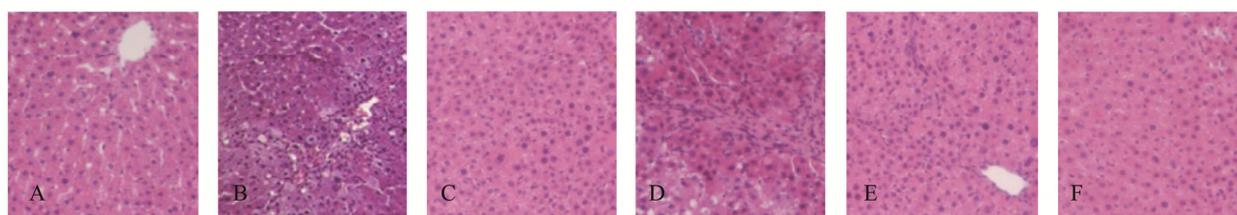


图 1 姜黄素对 CCl_4 所致急性肝损伤大鼠肝脏组织病理的影响(200×)

A-正常对照组; B-模型组; C-水飞蓟素阳性组; D-姜黄素低剂量组; E-姜黄素中剂量组; F-姜黄素高剂量组。

Fig. 1 Effect curcumin on histological changes of liver in CCl_4 -induced rats(200×)

A-normal control group; B-model group; C-positive control silymarin group; D-curcumin low dose group; E-curcumin middle dose group; F-curcumin high dose group.

3.3 姜黄素对 CCl_4 所致急性肝损伤大鼠肝脏 HO-1 活性的影响

腹腔给予 CCl_4 后, 模型组与正常对照组比较,

HO-1 的活性明显降低, 而姜黄素(25, 50, $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)灌胃给药后, 与模型组比较, HO-1 酶活性明显升高($P<0.05$), 提示机体通过提高 HO-1

的活性来抵御 CCl₄ 诱导的肝损伤。结果见图 2。

3.4 姜黄素对 CCl₄ 所致急性肝损伤大鼠血液中 HbCO 水平的影响

腹腔给予 CCl₄ 后,模型组与正常对照组比较,大鼠血液中 HbCO 含量明显降低;与模型组比较,姜黄素高、中、低剂量组可以明显升高血液中 HbCO 的含量($P < 0.05$)。结果见图 3。

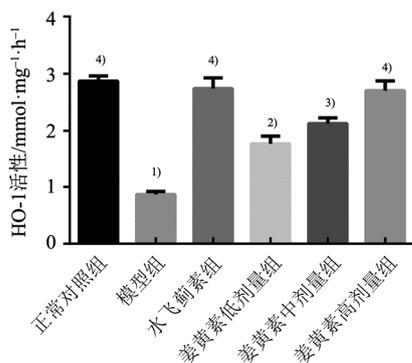


图 2 姜黄素对 CCl₄ 所致肝损伤大鼠 HO-1 酶活性的作用与正常对照组比较, ¹⁾ $P < 0.001$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.001$ 。

Fig. 2 Effects of curcumin on liver HO-1 activities on CCl₄-induced acute hepatic injury in rats

Compared with normal control group, ¹⁾ $P < 0.001$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.001$.

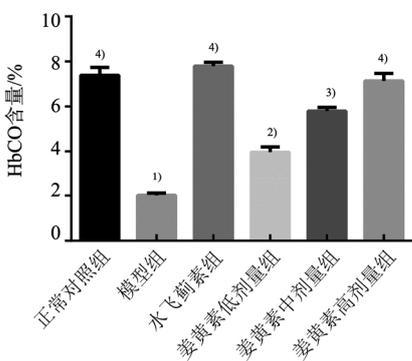


图 3 姜黄素对 CCl₄ 所致肝损伤大鼠血液中 HbCO 含量的影响

与正常对照组比较, ¹⁾ $P < 0.001$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.001$ 。

Fig. 3 Effects of curcumin on HbCO contents on CCl₄-induced acute hepatic injury in rats

Compared with normal control group, ¹⁾ $P < 0.001$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.001$.

3.5 姜黄素对 DPPH 自由基清除的效果

在 DPPH 溶液中分别加入不同浓度的姜黄素(1, 10, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)后,姜黄素对 DPPH 自由基的清除能力随作用时间及浓度增加而增大,且具有很明显的量效关系,表明姜黄素对 DPPH 的清除能力表现出浓度和时间依赖性。结果见图 4。

3.6 姜黄素对 ABTS 自由基清除的效果

在 ABTS 自由基溶液中分别加入不同浓度的姜黄素(1, 10, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)后,ABTS 自由基清除率在 10 min 内显著上升,在 10 min 后,体系基本趋于平衡,达到稳定状态。并且,随着姜黄素浓度的提高,其 ABTS 自由基的清除能力也逐渐增加。上述结果表明,姜黄素对 ABTS 的清除能力呈现出明显的时间和浓度依赖性。结果见图 5。

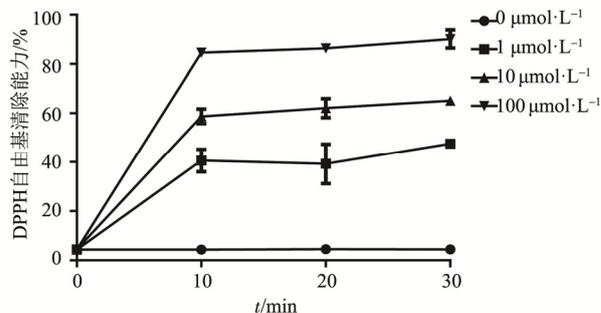


图 4 不同浓度的姜黄素对 DPPH 自由基清除率的影响

Fig. 4 Scavenging effects of different concentrations of curcumin on DPPH

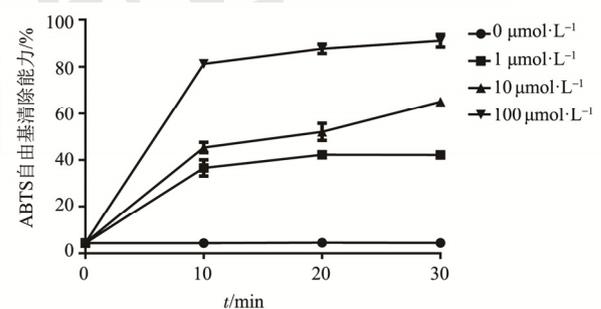


图 5 不同浓度的姜黄素对 ABTS 自由基清除率的影响

Fig. 5 Scavenging effects of different concentrations of curcumin on ABTS

4 讨论

CCl₄ 诱导的肝损伤实验研究模型较广泛经典^[7-8], CCl₄ 在肝细胞内经微粒体酶活化生成自由基(CCl₃·), CCl₃·可攻击肝细胞膜上的磷脂分子,启动脂质过氧化反应,破坏细胞膜完整性,胞浆中的酶类如 ALT、AST 释出^[9-10]。肝脏损伤后,血清中 ALT、AST 活性会升高,因此,血清转氨酶是肝细胞损伤的指标,血清转氨酶的升高在一定程度上反映了肝细胞的损伤程度。本研究发现大鼠给予姜黄素后能有效抑制 ALT、AST 水平的升高,说明姜黄素能够抵御 CCl₄ 诱导的肝细胞损伤,对肝脏有一定的保护作用,且高剂量组效果更佳,接近水飞蓟素的效果。

HO-1 是一种非常重要的内源性抗氧化酶,广

泛分布于肝、肾、脾等脏器细胞微粒体上，帮助细胞抵御氧化应激，HO-1/CO 途径对细胞的损伤具有一定的保护作用。HO-1 可以降解血红素，生成胆绿素、CO 以及铁离子，胆绿素又在胆绿素还原酶的作用下迅速转化为胆红素，是一种强抗氧化剂，能清除体内多余的氧自由基。而内源性 CO 是新发现的一种重要的细胞内和细胞间信使分子，参与多种生理功能调节^[11-12]。HO-1 正是通过阻止游离血红素参与氧化反应、升高抗氧化代谢产物(胆红素、胆绿素及 CO)的生成以及铁代谢的调节，实现对氧化损伤多层次、多途径的保护，在许多生理和病理过程中均起到调节作用^[13-15]。但有关 HO-1/CO 系统在姜黄素干预急性肝损伤中的作用情况尚不清楚。本实验发现，模型组给予 CCl₄ 后，HO-1 活性明显下降，经姜黄素预处理后，HO-1 活性升高，血液中 HbCO 水平明显升高，提示姜黄素防止 CCl₄ 介导的急性肝损伤可能与其诱导 HO-1 活性并提高 HbCO 水平有关。

DPPH 是一种稳定的以氮为中心的质子自由基，其乙醇溶液呈紫色并在 517 nm 处有强烈吸收光谱。当 DPPH 溶液中加入抗氧化剂时，由于其自由基清除剂提供一个电子与 DPPH 的孤对电子配对，使 DPPH 紫色消退导致吸收光谱强度随加入的抗氧化剂的量的增加而减弱^[16]。ABTS 自由基清除法被广泛用于测定生物样品的抗氧化能力，在反应体系中，ABTS 经活性氧化后生成稳定的蓝绿色阳离子自由基 ABTS⁺·，若加入的物质具有抗氧化性，则能与 ABTS⁺· 发生反应从而使溶液褪色，特征吸光度降低^[17]。实验结果表明，姜黄素对 DPPH 自由基及 ABTS 自由基有明显的清除作用，且其清除自由基的能力随着浓度的增加而增加，并具有量效关系。说明姜黄素具有良好的抗氧化能力，从而对 CCl₄ 诱导的急性肝损伤具有很好的保护作用。

综上所述，姜黄素可以减轻 CCl₄ 诱导的大鼠急性肝损伤，可能是通过诱导 HO-1 活性提升机体的抗氧化能力以及姜黄素自身的抗氧化能力实现的。姜黄素诱导肝细胞 HO-1 表达的分子机制，还有待进一步研究。本研究结果为临床使用姜黄素治疗肝病提供了一定的科学依据。

REFERENCES

[1] SHEHZAD A, HA T, SUBHAN F, et al. New mechanisms and

the anti-inflammatory role of curcumin in obesity and obesity-related metabolic diseases [J]. *Eur J Nutr*, 2011, 50(3): 151-161.

- [2] LI X J, ZHANG X M, WANG M, et al. Preparation and tumor targeting evaluation of curcumin-loaded PLGA nanoparticles modified by tumor penetrating peptides [J]. *Chin J New Drugs(中国新药杂志)*, 2016, 26(6): 692-698.
- [3] ZUCKERBRAUN B S, BILLIAR T R. Heme oxygenase-1: a cellular Hercules [J]. *Hepatology*, 2003, 37(4): 742-744.
- [4] CAI Y J, FANG J G, MA L P, et al. Inhibition of free radical-induced peroxidation of rat liver microsomes by resveratrol and its analogues [J]. *Biochem Biophys Acta*, 2003, 1637(1): 31-38.
- [5] ZHANG Q A, FAN X H, LIU M, et al. Optimization of extraction conditions of flavones from Semen astragali complanati by response surface methodology and its scavenging ability on DPPH free radical [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2013, 25(10): 1339-1345.
- [6] ZHANG Q A, FAN X H, ZHANG Z Q, et al. Antioxidant for phenolic extracts from Semen Astragali Complanati [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2012, 24(7): 955-958.
- [7] ZHAO Y X, FENG C X, LIU X T, et al. Protective effects of silybin self-emulsifying drug delivery systems on acute liver injury induced by CCl₄ [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2016, 33(8): 1006-1009.
- [8] YAO B Y, HUANG Z M. Berberine protect mice against CCl₄-induced acute liver injury [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2016, 33(4): 424-427.
- [9] YANG J J, XIONG Q M, ZHANG J, et al. The protective effect of stauntoniachinensis polysaccharide on CCl₄-induced acute liver injuries in mice [J]. *Int J Biomed Sci*, 2014, 10(1), 16-20.
- [10] HUANG B N, YANG W, GE Q F, et al. Hepatoprotective effects of N-acetylcysteine injection on tetrachloride-induced injury in primary rat hepatic cells [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2011, 28(9): 795-798.
- [11] SO H S, KIM H J, KIM Y H, et al. Evidence that cisplatin-induced auditory damage is attenuated by downregulation of pro-inflammatory cytokines via Nrf2/HO-1 [J]. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2008, 9(3): 290-306.
- [12] RYTER S W, MORSE D, CHOI A M. Carbon monoxide and bilirubin-potential therapies for pulmonary/vascular injury and disease [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 36(2): 175-182.
- [13] KOUREMBANAS S. Carbon monoxide and heme oxygenase in the regulation of pulmonary vascular function and structure [M]. Springer US, 2011: 779-786.
- [14] TIAN J, ZHENG Y. The gaseous signaling molecules and their roles in pathophysiological processes in the prostate [J]. *Chin J Pathophys(中国病理生理杂志)*, 2003, 19(6): 856-858.
- [15] WEN T, ZHANG G, MEI S, et al. Protective effect of heme oxygenase-1 and its reaction product, carbon monoxide on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats [J]. *J Peking Univ (Health Sci)*, 2006, 38(6): 618-622.
- [16] 胡筱波. 油菜花粉谷蛋白酶解肽的制备及其抗肿瘤活性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- [17] LIU Y, WANG J, MOU J L, et al. Study on preparation and the antioxidant effect of antioxidant peptide from scallop protein [J]. *Sci Technol Food Indust(食品工业科技)*, 2014, 35(8): 206-209.

收稿日期: 2017-05-09

(本文责编: 李艳芳)