

胡萝卜苷对刀豆蛋白 A 诱导的急性肝损伤的保护作用

王翔鹏¹, 武璐璐^{1,2}, 李丽丽^{1,2}, 冯一洲³, 万星¹, 吴昊^{1,4*}, 向阳^{1,2*} (1.湖北民族大学, 湖北 恩施 445000; 2. 风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室, 湖北 恩施 445000; 3.四川大学华西医院, 成都 610000; 4.武汉大学, 武汉 430000)

摘要: 目的 探究胡萝卜苷对刀豆蛋白 A (concanavalin A, conA) 诱导的急性肝损伤的保护作用及相关机制。方法 将 50 只 C57 BL/6 小鼠随机分成 5 组: 正常组、模型组和胡萝卜苷低、中、高剂量组, 每组 10 只。尾静脉注射 conA 制备急性肝损伤模型后, 胡萝卜苷各剂量组立即灌胃胡萝卜苷治疗, 12 h 后处死动物。测定肝指数, 检测血清中谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 活性及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 的含量。HE 染色观察肝组织病理学改变。qRT-PCR 检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 在肝组织中的转录水平。Western blotting 检测信号转导与转录激活子 (signal transduction and activator of transcription, STAT3) 及 p-STAT3 的表达。结果 胡萝卜苷各剂量组的血清 ALT、AST、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量, 肝脏 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达, 肝脏 STAT3、p-STAT3 水平皆低于模型组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。HE 染色结果也表明, 胡萝卜苷的治疗能够有效减轻肝损伤。结论 胡萝卜苷具有抵抗 conA 诱导的肝损伤的作用, 该作用可能与抑制 STAT3 的表达有关。

关键词: 胡萝卜苷; 刀豆蛋白 A; 自身免疫性肝炎; 炎症; 肝损伤

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)19-2305-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.19.001

引用本文: 王翔鹏, 武璐璐, 李丽丽, 等. 胡萝卜苷对刀豆蛋白 A 诱导的急性肝损伤的保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(19): 2305-2310.

Protective Effect of Daucosterol on Acute Liver Injury Induced by Concanavalin A

WANG Xiangpeng¹, WU Lulu^{1,2}, LI Lili^{1,2}, FENG Yizhou³, WAN Xing¹, WU Hao^{1,4*}, XIANG Yang^{1,2*} (1. Hubei Minzu University, Enshi 445000, China; 2. Hubei Provincial Key Laboratory of Occurrence and Intervention of Rheumatic Diseases, Enshi 445000, China; 3. West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610000, China; 4. Wuhan University, Wuhan 430000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the protective effect and mechanisms of daucosterol on acute liver injury induced by concanavalin A (conA). **METHODS** Fifty C57 BL/6 mice were randomly divided into 5 groups: normal group, model group, low, medium and high dose group of daucosterol, 10 rats in each group. After injection of conA into the tail vein, the daucosterol was administered immediately in each group of daucosterol. After 12 h, killed the animals. The liver index was measured, and the activity of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and the contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) in serum were detected. The pathological changes of liver tissue were observed by HE. qRT-PCR was used to detect the transcription levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in liver. Western blotting was used to detect the expression of STAT3 and p-STAT3. **RESULTS** The indexes of each group of daucosterol were lower than the model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), such as the content of ALT, AST, TNF- α , IL-1 β , IL-6 in serum, the expression of TNF- α , IL-1 β , IL-6 mRNA in liver, and the levels of STAT3 and p-STAT3 in liver. The results of HE staining also showed that the treatment of daucosterol can effectively reduce liver damage. **CONCLUSION** Daucosterol has a protective effect on liver injury induced by conA, which may be related to inhibition of STAT3 expression and activation.

KEYWORDS: daucosterol; concanavalin A; autoimmune hepatitis; inflammation; liver injury

急性肝损伤是由物理、化学及生物因素等造成肝细胞死亡, 肝脏功能失代偿, 无法满足机体需求, 导致内环境紊乱的一种疾病, 严重者可威胁生命。

若急性肝损伤病情迁延, 则可发展至肝硬化、肝癌等难治性肝病^[1]。胡萝卜苷是一种广泛存在于众多中草药中的天然化合物。近年来, 胡萝卜苷保护血

基金项目: 国家自然科学基金项目(81260458); 国家级大学生创新创业项目(201810517021)

作者简介: 王翔鹏, 男 Tel: 15171983391 E-mail: 1356248045@qq.com *通信作者: 向阳, 男, 博士, 教授 Tel: 13607249969
E-mail: xiangy1961@126.com 吴昊, 男, 博士, 实验师 Tel: 18671895812 E-mail: 3640689@qq.com

管内皮、促进神经细胞增殖、抗肿瘤及抗炎等药理作用被不断发掘^[2-5]。其中抗炎作用的相关研究还尚未深入,目前仅体现出了胡萝卜苷能够抑制脂多糖刺激的巨噬细胞 NO 的分泌这一表观抗炎现象^[5]。我国肝病发病率最高的乙型肝炎的病理过程以炎症反应为主^[6]。因此为深入探索胡萝卜苷的药理作用,继续揭示其抗炎作用,加强胡萝卜苷的开发,本研究以刀豆蛋白 A(concanavalin A, conA)诱导的小鼠急性免疫性肝损伤模型为研究模型,探讨胡萝卜苷的抗炎作用。

1 材料

1.1 药品及试剂

胡萝卜苷(上海源叶有限公司,货号: B20517;批号: P26F9F54684; HPLC $\geq$ 98%; 规格: 20 mg); conA(美国 Sigma 公司, 货号: C2010; 批号: MKBH2406V; 规格: 25 mg); 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)(货号: EK2822/2; 批号: 228271031)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)(货号: EK201B2/2; 批号: 2201B70832)与白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)(货号: EK2062/2; 批号: 220670831)均购自联科生物科技有限公司; STAT3(批号: D3Z2G)、p-STAT3(批号: D3A7)一抗购自美国 CST 公司; β -actin(批号: BM3873)一抗及羊抗兔二抗(批号: BA1055)购自博士德公司; PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2 动物

SPF 清洁级 C57 BL/6 δ 小鼠 50 只,体质量 19~21 g,由北京维通利华生物技术有限公司提供,动物生产许可证号: SCXK(京)2016-0011。

1.3 仪器

BS200 全自动生化分析仪(德国 IKA 公司); 5424 低温超速离心机(德国 Eppendorf 公司); DYCZ-24KF 电泳仪、DYCZ-40G 转膜仪、DYY-12D 电泳仪电源均购自北京六一; ImageQuant™ LAS4000 超灵敏化学发光成像分析仪(GE 医疗集团); Eclipse E200 显微镜(日本 Nikon)。

2 方法

2.1 药物配置

取 20 mg 胡萝卜苷混于 25 mL 生理盐水,形成终浓度 0.8 mg·mL⁻¹的药液。取 25 mg conA 溶于 31.25 mL 生理盐水,形成终浓度 0.8 mg·mL⁻¹的 conA 溶液。

2.2 动物造模及给药

参考李红等^[7]对于 conA 致 C57 BL/6 δ 小鼠免疫性肝损伤模型的研究,并结合本研究的预实验,将 50 只 C57 BL/6 6 周龄, δ 小鼠适应性喂养 7 d,随机分为 5 组:正常组、模型组和胡萝卜苷低、中、高剂量组(5, 10, 20 mg·kg⁻¹)。除正常组外,所有实验小鼠尾静脉注射 12 mg·kg⁻¹ conA。胡萝卜苷各剂量组紧接着以相应剂量灌胃。于注射 conA 后 12 h 处死所有实验小鼠,摘眼球取血,解剖取其肝脏,并按相关检测指标所需储存条件储存样品。

2.3 肝指数测定

处死小鼠前称量体质量,处死后采集肝脏,用生理盐水冲洗,滤纸吸干,称量肝脏质量,并记录。肝指数=肝脏质量/体质量 $\times$ 100%。

2.4 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)测定

摘眼球取血,静置 1 h 后,4 $^{\circ}$ C 4 000 r·min⁻¹离心 5 min,取上清,立即放入全自动生化分析仪进行检测。

2.5 HE 染色

处死小鼠后采集肝脏样本,取一叶肝叶浸泡于 4%多聚甲醛 24 h 固定处理,其余肝组织存于-80 $^{\circ}$ C 冰箱备用。固定完成后,进行常规石蜡包埋,切片,HE 染色,脱水,封片。将病理切片放于显微镜 100 $\times$ 倍镜下观察。

2.6 ELISA 检测

将 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 ELISA 试剂盒从 4 $^{\circ}$ C 冰箱取出,平衡置室温。按说明书要求配置一定浓度梯度的标准品及相关试剂。样品孔加入 80 μ L 1 $\times$ 检测缓冲液、20 μ L 待测血清及 50 μ L 按说明书要求稀释的检测抗体,室温孵育 1.5 h。弃废液,每孔加入 300 μ L 洗液洗板,每次洗涤 90 s,拍板,吸干水分,共洗涤 6 次。洗涤完成后,每孔加入 100 μ L 经说明书要求稀释的辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素,室温孵育 30 min,重复上述洗涤步骤,最后进行显色反应,于 450 nm 处测得 OD 值。

2.7 qRT-PCR 检测

取 0.1 g 肝组织,剪碎研磨,加入 1 mL TRIzol 提取总 RNA。使用酶标仪分析 RNA 的浓度和纯度。通过使用 Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA 试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA。qRT-PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 15 s, 58 $^{\circ}$ C 1 min, 重复 40 个

循环。进行 cDNA 样品的 qRT-PCR 测定。GAPDH 用为内部参照。比较 CT 值, $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算基因表达的倍数变化。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequence

引物	序列
TNF- α 正向	ACGGCATGGATCTCAAAGAC
TNF- α 反向	CGGACTCCGCAAAGTCYAAG
IL-6 正向	CATGTTCTCTGGGAAATCGTGG
IL-6 反向	GTACTCCAGGTAGTCATGGTAC
IL-1 β 正向	GAGCTTCAGGCAGGCAGTAT
IL-1 β 反向	ATGGGAACGTCACACACCAG
β -actin 正向	TACCACCATGTACCAGGCA
β -actin 反向	CTCAGGAGGAGCAATGATCTTGAT

2.8 Western blotting 试验

取 0.1 g 肝组织, 剪碎, 研磨, 加入 1 mL RIPA 裂解液, 组织匀浆器匀浆, 接着超声破碎(超声 3 s, 间隔 7 s, 共计 2 min), 冰上裂解 30 min 后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 13 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 取上清。通过 BCA 法检测蛋白浓度, 并配平各样品的浓度。加入 5 倍上样缓冲液, 99 $^{\circ}\text{C}$ 煮样 10 min, 使蛋白充分变性。制取 10% 的分离胶及 5% 的浓缩胶, 浓缩胶电泳时 75 V, 分离胶电泳时 115 V, PVDF 膜 275 mA 恒流转膜 75 min, 5% 脱脂牛奶封闭 1.5 h, 孵育一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, β -actin(稀释 1 : 4 000), STAT-3(稀释 1 :

1 000), p-STAT3(稀释 1 : 1 000), TBST 洗脱 3 次, 每次 10 min, 室温孵育二抗(稀释 1 : 15 000), 2 h 后 TBST 洗脱 3 次, 每次 10 min, 超灵敏化学发光成像分析仪 ECL 法显影。

2.9 统计分析

采用 SPSS 24.0 软件进行分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较方差分析及独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 胡萝卜苷对肝指数、ALT 及 AST 的影响

与正常组相比, 模型组的肝指数、ALT 及 AST 都显著上升($P < 0.01$), 这表明尾静脉注射 conA 对于肝脏造成了一定的损伤。与模型组相比, 胡萝卜苷各剂量组皆表现出良好的治疗效果, 能够有效降低肝指数、ALT 及 AST($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见图 1。

3.2 胡萝卜苷对肝脏组织病理学的影响

正常组小鼠肝脏肝小叶结构完好, 肝细胞排列均匀, 无炎症浸润等损伤现象; 模型组镜下可见大范围肝细胞死亡, 肝小叶结构紊乱, 炎症浸润明显; 胡萝卜苷各剂量组随着剂量的增加, 抗损伤及缓解炎症的作用也进一步增强, 肝细胞损伤面积也随之减少。小鼠肝脏 HE 染色结果见图 2。

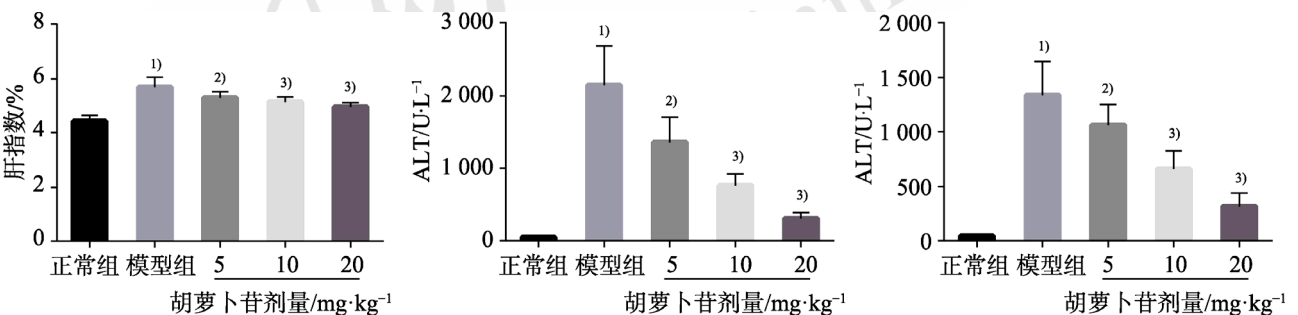


图 1 胡萝卜苷对肝指数、ALT 及 AST 的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

与正常组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 1 Effects of daucosterol on liver index, ALT and AST($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

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

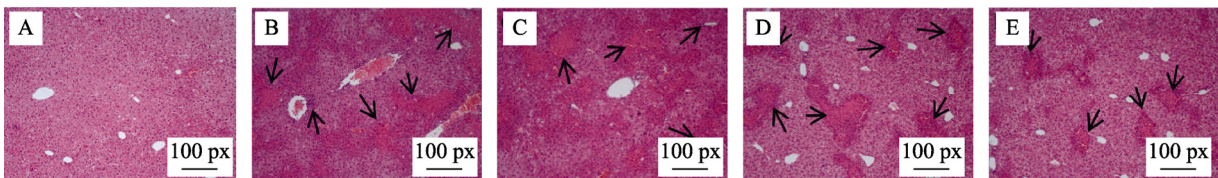


图 2 组织病理学检查(HE, 100 $\times$)

A-正常组; B-模型组; C-胡萝卜苷低剂量组; D-胡萝卜苷中剂量组; E-胡萝卜苷高剂量组; 箭头表示肝细胞坏死区域伴炎症浸润。

Fig. 2 Histopathological examination(HE, 100 $\times$)

A-normal group; B-model group; C-daucosterol low dose group; D-daucosterol medium dose group; E-daucosterol high dose group; the arrow indicates the hepatocyte necrosis with inflammation infiltration.

3.3 胡萝卜苷对 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 的影响

相较于正常组,模型组血清中 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 的含量显著上升($P<0.01$)。胡萝卜苷各剂量组治疗 conA 诱导的免疫性肝损伤后,小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 的含量低于模型组,具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见图 3。

3.4 胡萝卜苷对 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 转录的影响

qRT-PCR 结果显示,相较于正常组,模型组中 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 的 mRNA 表达水平明显升高($P<0.01$)。胡萝卜苷各剂量呈现剂量依赖地抑制 conA 诱导的 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 的 mRNA 的高表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见图 4。

3.5 胡萝卜苷对 STAT3 及 p-STAT3 的影响

Western blotting 结果显示,相较于正常组,模型组中 STAT3 及 p-STAT3 的表达显著上调($P<0.01$)。胡萝卜苷治疗后,STAT3 及 p-STAT3 的表达随着胡萝卜苷剂量的增加而逐渐减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见图 5。

4 讨论

急性肝损伤是肝脏功能障碍乃至结构破坏的病理过程,根据病因可分为物理性(如外伤)、化学性(如 CCl₄)、生物性(如乙型肝炎病毒)等^[1]。在我国,乙型肝炎病毒是最常见的肝损伤诱导因素^[6]。ConA 诱导免疫性肝损伤被认为是一种适合研究肝脏炎症的动物模型,包括乙型肝炎;同时也是一种适用于研究自身免疫性肝炎的动物模型^[7-8]。

ConA 是一种 T 细胞分裂原,进入小鼠体内后,诱导 T 细胞增殖分化加强,诱导其分泌促炎细胞因子,因肝脏血流丰富、肝细胞能够分泌炎症介质等特点,受到巨噬细胞、中性粒细胞、自然杀伤细胞等免疫细胞浸润,产生细胞不良反应,造成严重的肝细胞死亡^[9]。

肝脏的炎症反应是 conA 诱导的免疫性肝损伤的基本过程^[9-11],炎症反应通过炎性细胞释放的促凋亡细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 等)和活性氧来诱导肝细胞死亡,而死亡的肝细胞释放的细胞内容物

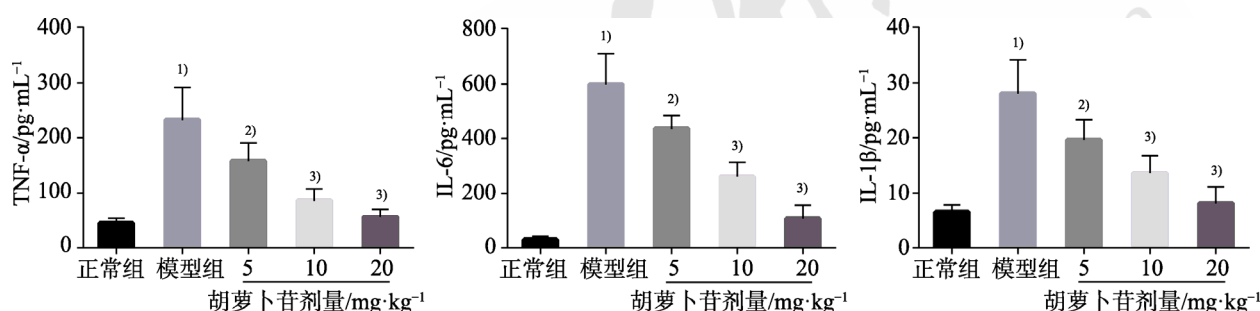


图 3 胡萝卜苷对 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

与正常组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 3 Effects of daucosterol on TNF- α , IL-1 β and IL-6 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

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

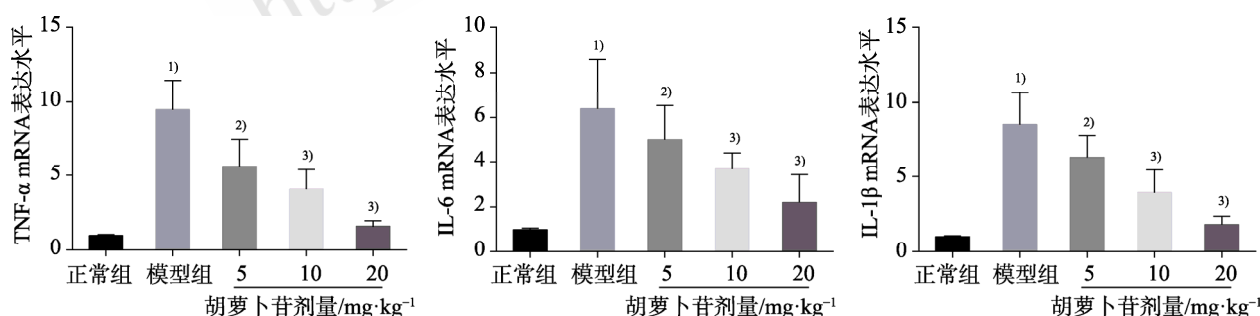


图 4 胡萝卜苷对 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 转录水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

与正常组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 4 Effects of daucosterol on the transcription levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

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

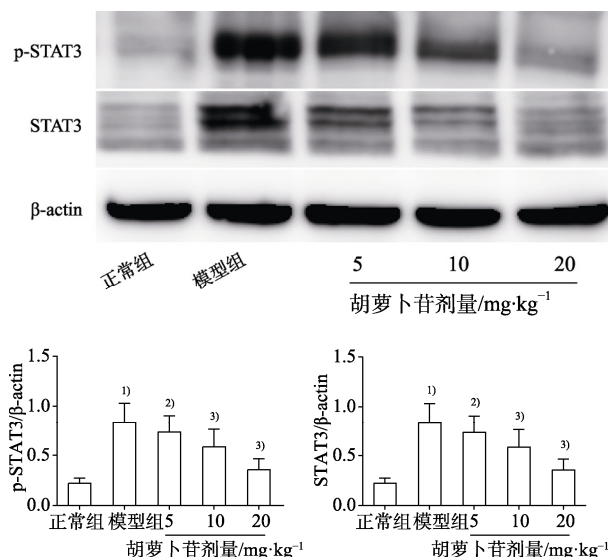


图5 胡萝卜苷对STAT3及p-STAT3的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)与正常组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 5 Effects of daucosterol on STAT3 and p-STAT3 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

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

可反作用于炎症, 促进炎症进展^[12]。IL-1 β 是扩大炎症反应的主要细胞因子之一, 通过结合细胞表面IL-1R, 激活促分裂原活化蛋白激酶-激酶3/6, 继而激活JNK、p38信号通路, 诱导免疫细胞分泌TNF- α 等细胞因子^[13-14]。TNF- α 是炎症基础上引发肝细胞死亡的主要细胞因子, 能够通过结合细胞表面死亡受体激活死亡受体凋亡途径, 诱导肝细胞死亡^[15]。

STAT3信号通路是早期炎症的调控途径之一, 能够协同NF- κ B调节TNF- α 等炎症因子的表达^[16]。Zhao等^[17]在研究脂多糖诱导的急性肺损伤时发现了STAT3的显著活化并与炎症的发生相关, 使用STAT3抑制剂LLL12能够通过有效抑制STAT3的活化从而降低炎症因子TNF- α 、IL-1 β 和iNOS的产生。TNF- α 、IL-1 β 和iNOS都是NF- κ B的下游分子, STAT3抑制剂的抑制作用提示STAT3除了可以与NF- κ B产生协同作用外, STAT3在炎症反应中的优先级可能大于NF- κ B。此外, IL-6是STAT3主要的胞外刺激因子, 通过结合细胞表面IL-6受体, 使得信号转导蛋白gp130二聚化并活化, 进而激活JAK2/STAT3信号轴。Katz等^[18]发现IL-6缺陷小鼠较野生型小鼠具有更强的抵抗肝损伤的能力, 这也提示IL-6/STAT3炎症通路在肝损伤进程中的损伤促进作用。Liu等^[9]研究发现抑制STAT3的磷酸化, 能够有效减少

IL-1 β 的分泌, 缓解肝脏炎症。因此, 抑制IL-6/STAT3/IL-1 β 炎症通路可能可以作为抵抗conA诱导的急性肝损伤的机制。

本研究对IL-6及IL-1 β 在血清中的含量进行检测, 发现conA能够明显上调血清中IL-6及IL-1 β 的表达。经胡萝卜苷治疗后, 高表达的IL-6及IL-1 β 的表达明显受到了抑制, 且随着胡萝卜苷剂量的增加, 抑制作用随之增强。Western blotting结果显示, conA上调了STAT3蛋白表达及磷酸化水平, 而胡萝卜苷各剂量组皆发挥了抑制STAT3表达及磷酸化的作用。当高剂量的胡萝卜苷干预conA诱导的模型小鼠后, STAT3的总蛋白水平接近正常组水平, 而p-STAT3磷酸化也接近正常组水平。由于STAT3的总蛋白水平在conA和胡萝卜苷的干预下都发生了改变, 因此胡萝卜苷对于p-STAT3的表达不是特别明确。但可以肯定的是胡萝卜苷能够下调STAT3的总蛋白表达, 且该作用可能与p-STAT3的下调相关, 最终产生抑制炎症的作用。

综上所述, 胡萝卜苷抗conA诱导的免疫性肝损伤的作用良好, 且该作用可能与抑制STAT3信号通路、减轻炎症损伤有关。但本研究着重于炎症方面的探讨, 就胡萝卜苷其他治疗conA诱导的急性肝损伤的机制研究较为欠缺。Jiang等^[9]报道了胡萝卜苷的抗凋亡作用, 这可能也是胡萝卜苷保护肝脏的机制之一。因此, 胡萝卜苷抵抗conA诱导的肝脏损伤的作用机制还可继续由炎症以外的方面进行探究, 为其将来作为临床用药提供更多的理论基础。

REFERENCES

- [1] YIN L H, YU H, PENG J Y. Molecular mechanism and intervention of Chinese medicine of carbon tetrachloride induced liver injury [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(9): 1147-1155.
- [2] HE Q Y, WEN X C. Protective and repairing effect of *Crataegus pinnatifida* compounds on oxLDL induced damages of HMEC [J]. J Shanghai Univ(Nat Sci Edit)(上海大学学报: 自然科学版), 2007, 13(6): 751-756.
- [3] JIANG L H, YANG N Y, YUAN X L, et al. Daucosterol promotes the proliferation of neural stem cells [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2014(140): 90-99.
- [4] LIU X, XIAO Y Z. Daucosterol inhibits the proliferation and migration of HepG2 cells and topoisomerase expression [J]. Chin J Histochem Cytochem(中国组织化学与细胞化学杂志), 2016, 25(5): 402-405.
- [5] YANG N Y, WANG L Y, ZHANG Y W. Immunological

- activities of components from leaves of *Liriodendron chinensis* [J]. Chin Herb Med(中草药), 2015, 7(3): 279-282.
- [6] XIA X Q, HU A R, JIANG S W, et al. Application of nucleoside and nucleotide analogs(NAs) and analysis of hepatitis b virus(HBV) gene mutations related to NAs in patients with chronic HBV infection [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(6): 810-814.
- [7] LI H, YU H J, SHENG G G. Research of acute immunological liver injury models in C57BL/6J mice induced by ConA [J]. Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis(中西医结合肝病杂志), 2016, 26(2): 93-95.
- [8] LI J J, XIA Y J, LIU T, et al. Protective effects of astaxanthin on ConA-induced autoimmune hepatitis by the JNK/p-JNK pathway-mediated inhibition of autophagy and apoptosis [J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0120440. Doi:10.1371/journal.pone.0120440.
- [9] LIU X F, YIN S G, CHEN Y L, et al. LPS-induced proinflammatory cytokine expression in human airway epithelial cells and macrophages via NF- κ B, STAT3 or AP-1 activation [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(4): 5484-5491.
- [10] WANG H X, LIU M, WENG S Y, et al. Immune mechanisms of concanavalin A model of autoimmune hepatitis [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(2): 119-125.
- [11] YIN L H, YU H, PENG J Y. Molecular mechanism and intervention of Chinese medicine of carbon tetrachloride induced liver injury [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(9): 1147-1155.
- [12] WANG Y J, SINGH R, LEFKOWITCH J H, et al. Tumor necrosis factor-induced toxic liver injury results from JNK₂-dependent activation of caspase-8 and the mitochondrial death pathway [J]. J Biol Chem, 2006, 281(22): 15258-15267.
- [13] SEKIYAMA K D, YOSHIBA M, THOMSON A W. Circulating proinflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α , and IL-6) and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) in fulminant hepatic failure and acute hepatitis [J]. Clin Exp Immunol, 1994, 98(1): 71-77.
- [14] YANG F. The mechanism of Kupffer cells' regulation in liver failure induced by ConA [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.
- [15] HAN D, YBANEZ M D, AHMADI S, et al. Redox regulation of tumor necrosis factor signaling [J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(9): 2245-2263.
- [16] 杨丽萍. JAK/STAT3 通路 MAPK 通路协同调节早期炎症介质 TNF- α 转录活性[D]. 北京: 中国人民解放军军医进修学院, 2008.
- [17] ZHAO J P, YU H, LIU Y D, et al. Protective effect of suppressing STAT3 activity in LPS-induced acute lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2016, 311(5): L868-L880.
- [18] KATZ A, CHEBATH J, FRIEDMAN J, et al. Increased sensitivity of IL-6-deficient mice to carbon tetrachloride hepatotoxicity and protection with an IL-6 receptor-IL-6 chimera [J]. Cytokines Cell Mol Ther, 1998, 4(4): 221-227.
- [19] JIANG L H, YUAN X L, YANG N Y, et al. Daucosterol protects neurons against oxygen-glucose deprivation/reperfusion-mediated injury by activating IGF1 signaling pathway [J]. J Steroid Biochem, 2015(152): 45-52.

收稿日期: 2019-08-01
(本文责编: 李艳芳)