

樟芝多糖保护小鼠急性肝损伤的机制研究

杨毅, 官俏兵, 郭丽, 韩晨阳* (嘉兴市第二医院, 浙江 嘉兴 314001)

摘要: 目的 研究樟芝多糖保护小鼠急性肝损伤的机制。方法 通过 D-氨基半乳糖构建急性肝损伤小鼠, C57BL/6 小鼠分为对照组、模型组、樟芝多糖高剂量组、樟芝多糖低剂量组, 樟芝多糖高、低剂量组每日分别给予 50, 25 mg·kg⁻¹ 的樟芝多糖 2 次, 对照组和模型组给予等体积的生理盐水。给药 7 d 后紫外比色法测试盒检测大鼠肝组织中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平; TBA 法试剂盒检测肝组织中丙二醛(MDA)的水平; ELISA 试剂盒检测肝组织中白介素-6(IL-6)的表达; Western-Blot 检测肝脏组织中 NLRP-3、白介素-1 β (IL-1 β)、pro-caspase-1 和 caspase-1 的表达; HE 染色观察小鼠肝脏病理; RT-qPCR 检测肝脏组织中 Bcl-2、Bax、caspase-3、caspase-1 的 mRNA 表达。结果 与模型组相比, 樟芝多糖可以明显改善急性肝损小鼠的肝脏病理, 降低 ALT、AST 的表达以及 MDA 和 IL-6 的表达($P<0.01$), 肝脏组织中 NLRP-3、IL-1 β 以及 pro-caspase-1 和 caspase-1 的表达相比模型组显著降低($P<0.05$), Bax、caspase-3、caspase-1 的 mRNA 表达相比模型组显著降低($P<0.01$), Bcl-2 显著升高($P<0.01$)。结论 樟芝多糖对于小鼠急性肝损伤有着很好的保护作用, 其作用机制与炎性小体 NLRP-3 及其相关炎症因子的抑制有关。

关键词: 樟芝多糖; 炎性小体 NLRP-3; 急性肝损伤

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)14-1767-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.14.008

引用本文: 杨毅, 官俏兵, 郭丽, 等. 樟芝多糖保护小鼠急性肝损伤的机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(14): 1767-1772.

Protective Mechanism of Polysaccharides from *Anoderma Camphora* on Acute Liver Injury in Mice

YANG Yi, GUAN Qiaobing, GUO Li, HAN Chenyang* (The Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the mechanism of protect effect of polysaccharides from *Anoderma camphora* on the acute liver injury in mice. **METHODS** Acute liver injury mice were constructed by D-galactosamine. C57BL/6 mice were divided into control group, model group, high and low dose group of *Anoderma camphora* polysaccharides. High and low dose group of *Anoderma camphora* polysaccharides were given 50, 25 mg·kg⁻¹ *Anoderma camphora* polysaccharides for 2 times daily, the control group and model group were given saline measurement. After administration of 7 d, UV colorimetric test box was used to detect alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST); TBA test box was used to detect malondialdehyde(MDA) and ELISA method detected interleukin-6(IL-6) expression in liver tissues of rats; Western-blot was used to detect the expression of NLRP-3, interleukin-1 β (IL-1 β), pro-caspase-1 and caspase-1 in liver tissues; HE staining was used to observe the liver pathology of mice. The expression of Bcl-2, Bax, caspase-3 and caspase-1 mRNA in liver tissues was detected by RT-qPCR. **RESULTS** The polysaccharide from *Anoderma camphora* could obviously improve the liver pathology in the liver lesion mice, the expression of ALT and AST and the expression of MDA and IL-6 were significantly lower than those of model group($P<0.01$). The expression of NLRP-3, IL-1 β , pro-caspase-1 and caspase-1 in liver tissue was significantly lower than that in model group ($P<0.05$). The expression of Bax, caspase-3 and caspase-1 mRNA was significantly lower than that in model group($P<0.01$), and Bcl-2 increased significantly($P<0.01$). **CONCLUSION** Polysaccharide from *Anoderma camphora* has a good protective effect on acute liver injury mice. The mechanism is related to the inhibition of inflammatory body NLRP-3 and related inflammatory factors.

KEYWORDS: polysaccharide from *Anoderma camphora*; inflammatory corpuscle NLRP-3; acute liver injury

急性肝损伤是由各种肝脏疾病所导致的病变结果, 目前我国急性药物性损伤发病率呈逐年增高趋势, 占爆发性肝功能衰竭患者的 15%~30%^[1]。而目前越来越多的研究结果表明, NLRP3 炎性小体与急性肝损伤的发生发展有关^[2], 且 NLRP3 可以作为急性肝损伤预防和治疗的重要靶点。正常

肝组织一般低表达 NLRP3, 但是经过 CCl₄ 等干预后导致肝组织中 NLRP3 的表达显著上调, 同时伴随 IL-18 和 IL-1 β 等下游炎症因子表达, 所以可以说 NLRP3 在急性肝损伤中有着重要的作用^[3]。同时 NLRP3 还可以作为氧化应激和炎症疾病的调节位点^[4]。有研究发现, LPS 诱导的肝功能损伤中,

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目(LYY9H280003)

作者简介: 杨毅, 男, 副主任药师 Tel: (0573)82058433

E-mail: wasd911@126.com

*通信作者: 韩晨阳, 男, 硕士, 药师

Tel:

(0573)82058433 E-mail: 691513770@qq.com

HO-1 可以介导 NLRP3 信号调控炎症反应, 所以 NLRP3 引起的炎症反应调控机制是多样的^[5]。

樟芝是中国台湾独有的一种多孔菌类食用/药用真菌, 富含丰富的多糖、三萜、腺苷、氨基酸、蛋白质类等物质^[6-7]。与传统的灵芝相比, 樟芝中的多糖和三萜含量远远高于灵芝, 所以有着很好的研究价值和应用前景^[8]。中国台湾对于樟芝保肝护肝的作用有诸多报道, 而课题组前期研究发现, 樟芝多糖对于急性肝损伤有着很好的保护作用^[9], 但是目前其确切的作用机制和有效成分尚未被揭示。在多糖的研究中已经发现, 知母多糖、茯苓多糖等具有较好的抗炎作用, 其抗炎机制与 IL-1 β 、IL-6 的调节有关, 这成为多糖抗炎的药理基础, 而 IL-1 β 作为 NLRP3 小体下游重要的炎症因子, 所以推测多糖可以调节上游 NLRP3 抑制 IL-1 β 的作用, 但还需要验证。所以本研究基于樟芝多糖可能是通过抑制 NLRP3 炎症小体起到保肝作用的假设, 揭示樟芝多糖保护急性肝损伤小鼠的药理机制, 为樟芝多糖的研究及应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 药物

樟芝粉末(杭州众芝康股份有限公司, 批号: 20160214), 已过 50 目筛。

1.2 试剂

谷丙转氨酶(ALT)测试盒(紫外比色法检测, 批号: 112341)、谷草转氨酶(AST)测试盒(紫外比色法检测, 批号: 102145)、丙二醛(MDA)测试盒(TBA 法检测, 批号: 11254)、白介素-6(IL-6)ELISA 试剂盒(批号: 121147)均购自南京建成生物工程研究所; D-氨基半乳糖(Sigma 公司, 批号: 85142); 实时定量 PCR 试剂盒/SYBR Green Realtime PCR Master Mix(北京 Sinobio 公司, 批号: E090); 总 RNA 提取试剂盒(TRIZOL 法, BioTeKe 公司, 批号: RP2041); NLRP-3、白介素-1 β (IL-1 β)、pro-caspase-1 和 caspase-1 的一抗和 HRP 标记的二抗(批号: 114548, 147720, 147256, 147678)、内参 GAPDH 的一抗(批号: 148245)均购于 Abcam 公司; 乙醇、三氟乙酸、氯仿(纯度>99%, 批号: 80176961, 80134726, 10006818)均购于国药试剂股份有限公司; 双蒸水(实验室自制)。

1.3 动物

清洁级 C57BL/6 小鼠 40 只, 雌雄各半, 体重(20 $\pm$ 5)g, 购于浙江中医药大学动物实验中心, 实验动物许可证号: SCXK(浙)2013-0184; 小鼠分

笼饲养, 每笼 5 只。动物实验室温度为 20~25 $^{\circ}\text{C}$, 湿度为(70 $\pm$ 5)%, 依据国家标准啮齿类动物干燥饲料喂养, 小鼠活动、摄食自由。

1.4 仪器

7020 型全自动生化分析仪(日本日立公司); ME204E 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); DP11 显微镜(日本奥林巴斯公司); BS97MyCycler 型 PCR 仪、1658001 型 Western-Blot 电泳仪、ChemiDoc MP 凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 樟芝多糖的提取

采用乙醇沉淀法提取: 100 g 樟芝粉末加入 500 mL 双蒸水, 80 $^{\circ}\text{C}$ 回流提取 2 次, 每次 2 h。合并滤液后浓缩至 150 mL, 加入 3 倍体积的乙醇混匀后于 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下静置 12 h。抽滤获得沉淀。沉淀溶于 100 mL 热水, 采用 Sevag 方法脱蛋白 5 次, 调节乙醇浓度为 90%, 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下静置 12 h, 得到粗多糖, 按照上述方法反复 3~4 次后得到多糖纯品, 采用硫酸-蒽酮法测定总多糖, BCA 法测定总蛋白含量。

2.2 动物模型的构建及分组

采用 D-氨基半乳糖构建急性肝损伤小鼠, 取清洁级小鼠 40 只, 适应性饲养 1 周, 均给予基础饲料, 饮水、活动自由。1 周后随机分为对照组(健康小鼠)、模型组、樟芝多糖高剂量组和樟芝多糖低剂量组, 樟芝多糖高剂量组小鼠每天灌胃给予樟芝多糖(100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 1 d 2 次, 每次 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、樟芝多糖低剂量组小鼠每天灌胃给予樟芝多糖(50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 1 d 2 次, 每次 25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)(以多糖计), 而模型组和对照组小鼠每日给予等剂量的生理盐水灌胃 2 次, 连续 7 d, 末次给药后, 模型组、高剂量组和低剂量组小鼠腹腔注射 1 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 D-氨基半乳糖的生理盐水溶液, 对照组给予等剂量的生理盐水。

2.3 检测指标

在末次给药后 24 h, 断颈处死小鼠后, 取右叶肝脏, 以 4% 甲醛溶液固定, 石蜡包埋, HE 染色, 做病理组织学检查。病理学分级分期标准采用 Brunt 分级分期标准: 将细胞变性程度从无到重分为 4 级(0~3), 有无炎症反应分为 4 级(0~3), 干细胞损伤和气球样病变分为 3 级(0~2), 每张切片 3 项组织学评分之和为评分值, 分数越高, 肝脏组织损伤越严重。

取肝组织 2 份, 每份 200 mg, 用无菌剪刀剪成小块, 其中 1 份加入 10 倍量的生理盐水, 冰浴匀浆后在 4 ℃、12 000 ×g 离心 20 min, 得到上清液, 在 4 ℃条件下保存, 待处理完所有样品后经过 BCA 法蛋白定量后, 按照试剂盒操作检测 ALT、AST、MDA 的水平, ELISA 试剂盒检测 IL-6 的表达。

组织使用液氮研磨后, 加入含 PMSF 的 NP40 裂解液(1 g 组织加 6 μL), 冰上裂解 30 min 后在预冷的离心机上 1 000 ×g 离心 15 min, 取上清液后 BCA 法定量并调整蛋白浓度。利用 SDS-PAGE 凝胶电泳法分离蛋白, 经过转膜、封闭、一抗孵育、二抗孵育后 ECL 法检测蛋白, 最后在 ChemiDoc MP 凝胶成像分析系统中分析目的蛋白和内参蛋白的灰度值比值。按上述方法依次检测 NLRP-3、IL-1β、pro-caspase-1 和 caspase-1 的表达。

第 2 份肝组织加入液氮研磨后, 按照 TRIzol 试剂盒说明书操作, 提取组织中总 RNA, UV 检测总浓度, 定量后按照 AMV First cDNA Synthesis Kit 试剂盒方法进行反转录, 得到的 cRNA 在 -20 ℃保存, 最后利用 qPCR 检测 Bcl-2、Bax、caspase-3、caspase-1 的 mRNA 表达。每个样本设置 3 个复孔, 计算平均 Ct 值, 设置阴性对照。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算拷贝数, 并且以 GAPDH 为内参。引物设计见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequence

基因名称	引物名称	序列(5'-3')
GAPDH	F primer	GGTTGTCTCCTGCGACTTCA
	R primer	TGGTCCAGTTTCTTACTCC
Bcl-2	F primer	TGTCACAGAGGGGCTACGAGT
	R primer	TCAGGCTGGAAGGAGAAGATG
Bax	F primer	GATGAAGTGGACAGCAATATGG
	R primer	GCAAAGTAGAAGAGGGCAACC
caspase-3	F primer	CTGACTGGAAAGCCGAAACTC
	R primer	CTGCAAAGGGACTGGATGAAC
caspase-1	F primer	GCCTGTTCTGTGTGTGGAG
	R primer	TGCCACAGACATTCATACAGTTTC

2.4 数据处理和统计

计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 并用 Bonferoni 校正的 *t* 检验进行组间两两比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 樟芝多糖浓度及所含蛋白结果

硫酸-蒽酮法测定总多糖, BCA 法测定总蛋白

含量, 结果显示樟芝多糖含量为 92.3%, 蛋白含量为 18.7 mg·g⁻¹。

3.2 小鼠肝功能指标 ALT、AST 的变化

相比对照组小鼠, 模型组小鼠肝组织中 ALT 和 AST 表达显著升高($P < 0.01$), 而樟芝多糖干预后 ALT 和 AST 的表达显著下降且相比模型组具有显著性差异($P < 0.01$), 说明樟芝多糖对于小鼠急性肝损伤的肝功能有一定的调节作用。结果见表 2。

表 2 小鼠肝组织中 ALT 和 AST 的水平($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab. 2 Level of ALT and AST in liver tissues of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹
对照组	—	78.52±8.52	170.23±18.52
模型组	—	112.32±12.31 ¹⁾	237.32±28.52 ¹⁾
樟芝多糖低剂量组	50	92.38±18.22 ¹⁾²⁾	210.34±37.52 ¹⁾²⁾
樟芝多糖高剂量组	100	82.24±11.13 ¹⁾²⁾	186.54±21.35 ¹⁾²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P < 0.01$.

3.3 小鼠肝组织中炎症因子 IL-6 和 MDA 水平的变化

相比对照组小鼠, 模型组小鼠肝组织中 MDA 和 IL-6 表达显著升高($P < 0.01$), 而樟芝多糖干预后 MDA 和 IL-6 的表达显著下降且相比模型组具有显著性差异($P < 0.01$), 说明樟芝多糖对于小鼠急性肝损伤中炎症因子表达有抑制作用。结果见表 3。

表 3 小鼠肝组织中 MDA 和 IL-6 的水平($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab. 3 Level of MDA and IL-6 in liver tissues of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	MDA/nmol·mg ⁻¹	IL-6/nmol·mg ⁻¹
对照组	—	2.10±0.21	1.21±0.41
模型组	—	5.17±0.74 ¹⁾	6.24±0.82 ¹⁾
樟芝多糖低剂量组	50	4.51±0.67 ¹⁾²⁾	4.15±0.55 ¹⁾²⁾
樟芝多糖高剂量组	100	3.24±0.87 ¹⁾²⁾	2.87±0.43 ¹⁾²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P < 0.01$.

3.4 肝组织中 NLRP-3、IL-1β、pro-caspase-1 和 caspase-1 的表达

模型组小鼠 NLRP-3、IL-1β、pro-caspase-1 和 caspase-1 的表达显著高于对照组($P < 0.05$), 而樟芝多糖干预后, 炎症小体 NLRP-3 及 IL-1β、pro-caspase-1 和 caspase-1 的表达显著降低, 相比模型组具有显著差异($P < 0.05$)。结果见图 1。

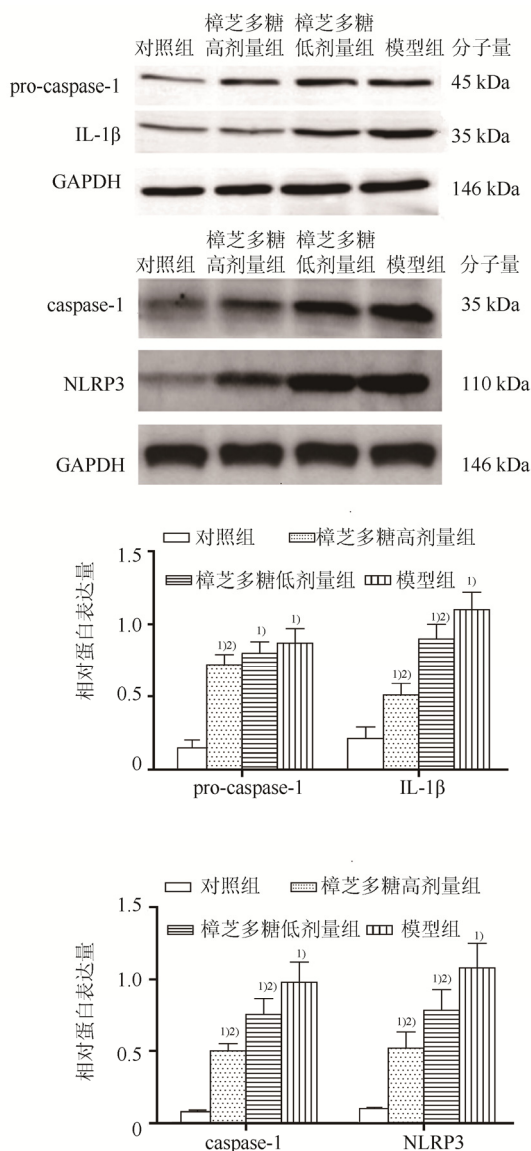


图 1 小鼠肝组织中 NLRP-3、IL-1 β 、pro-caspase-1 和 caspase-1 的表达
与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$ 。
Fig. 1 Expression of NLRP-3, IL-1 β , pro-caspase-1 and caspase-1 in liver tissues of mice
Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$.

表 4 小鼠肝组织中 Bcl-2、Bax、caspase-3、caspase-1 的 mRNA 表达($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab. 4 Expression of Bcl-2, Bax, caspase-3 and caspase-1 mRNA in liver tissues of mice($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	Bcl-2	Bax	caspase-3	caspase-1
对照组	—	2.12±0.18	0.30±0.08	0.20±0.04	0.19±0.08
模型组	—	1.10±0.13 ¹⁾	1.33±0.12 ¹⁾	1.28±0.08 ¹⁾	0.98±0.05 ¹⁾
樟芝多糖低剂量组	50	1.42±0.10 ¹⁾²⁾	0.95±0.13 ¹⁾²⁾	0.85±0.10 ¹⁾²⁾	0.77±0.07 ¹⁾²⁾
樟芝多糖高剂量组	100	1.66±0.13 ¹⁾²⁾	0.71±0.15 ¹⁾²⁾	0.58±0.11 ¹⁾²⁾	0.42±0.06 ¹⁾²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with the control group ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.01$.

3.5 小鼠肝组织 HE 染色结果

相比对照组(评分 0 分), 模型组小鼠肝组织评分为(5.8±0.6)分, 出现明显细胞肿胀和气球样变性, 樟芝多糖干预后, 小鼠肝组织中细胞肿胀变性程度减轻, 低剂量组评分为(3.6±0.8)分, 高剂量组评分为(2.0±0.5)分, 差异具有显著意义($P<0.01$)。说明樟芝多糖对小鼠急性肝损伤的组织病理有一定的保护作用。结果见图 2。

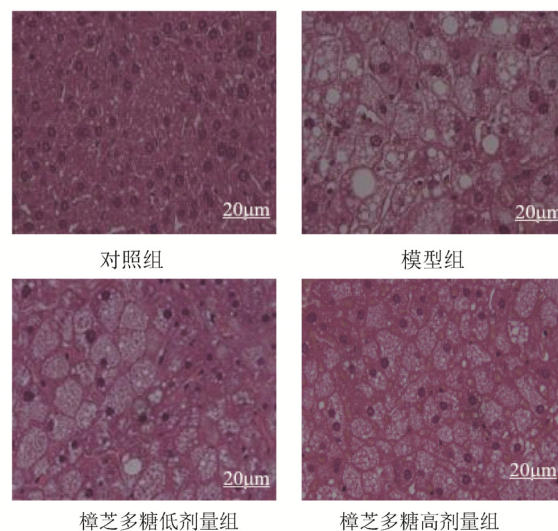


图 2 小鼠肝组织 HE 染色结果(400 $\times$)

Fig. 2 HE staining result of liver tissue in mice(400 $\times$)

3.6 小鼠肝组织中 Bcl-2、Bax、caspase-3、caspase-1 的 mRNA 表达

相比对照组, 模型组中 Bcl-2 表达显著降低($P<0.01$), 而 Bax、caspase-3 和 caspase-1 的表达显著升高($P<0.01$)。这表明急性肝损伤小鼠肝细胞凋亡和炎性死亡比例较高, D-半乳糖破坏了肝组织。樟芝多糖干预后, Bcl-2 的表达增高, Bax、caspase-3、caspase-1 的表达降低, 相比模型组具有显著差异($P<0.01$)。结果见表 4。

4 讨论

炎性小体是定位于细胞内的蛋白复合体,参与人体炎症和免疫反应,和糖尿病、动脉粥样硬化、肠道炎症、肿瘤和肝损伤多种疾病有关^[10-11]。NLRP3 的核心成分是 NLRs 家族的 NLRP3 和接头分子凋亡相关斑点样蛋白及效应分子 pro-caspase-1 组成^[12]。炎性小体激活炎症反应,调节 caspase-1 和 IL-1 β 的解离和活化,进而导致复杂的细胞反应网络,启动局部和全身炎症反应^[13]。在急性肝损伤的研究中发现, D-GalN 和 LPS 引起的肝脏炎症反应及肝脏功能障碍中发现 HO-1 可以通过抑制 NLRP3 保护肝脏损伤^[14],而在肝损伤小鼠模型中发现,肝实质细胞的 NLRP3 表达增高可以导致 caspase-1、IL-1 β 、IL-6、IL-18 的表达增高,干扰 NLRP3 的表达后可以显著减轻肝脏损伤及炎症反应,同样的,抑制 IL-1 β 和 IL-18 等可以利于肝脏保护^[15-16]。这些前期研究可以说明在急性肝损伤的研究中, NLRP3 小体及下游的关键信号因子 IL-1 β 的高表达可以促进肝损伤的进程,而抑制 NLRP3 的活化可以显著改善肝损伤。

樟芝作为一种原产于中国台湾的多孔菌类,由于富含大量的多糖,目前是研究的热点,研究表明樟芝多糖可以提高免疫力、抑制肿瘤细胞增殖、改善心血管循环系统等^[17-18],在保肝护肝的研究中,陆震鸣等^[19]发现牛樟芝醇提物可以显著抑制肝损伤标志物天门冬氨酸氨基转移酶和丙氨酸氨基转移酶的水平,还可以降低肝组织中 MDA 浓度,上调 GSH 相关酶^[20]。在动物水平的研究发现,其子实体和菌丝体提取物均可以对 CCl₄ 造成的急性肝损伤小鼠起到很好的干预作用,Chiang 等^[21]发现其水提物对于 ALT 和 AST 的降低效果最为明显。而本实验主要研究了樟芝多糖对于急性肝损伤小鼠的 NLRP3 炎性小体及相关的炎症因子干预作用,结果发现,樟芝多糖可以调节急性肝损伤小鼠的肝功能,降低 ALT 和 AST 的表达,并且显著下调 IL-6 炎症因子的表达以及 MDA 的水平,进一步研究发现,樟芝多糖可以下调 NLRP3 及其相关 caspase-1、pro-caspase-1, IL-1 β 的表达水平,降低了细胞炎性死亡的概率。樟芝多糖可以使肝组织中凋亡信号 Bax、caspase-3 的 mRNA 表达下调, Bcl-2 的 mRNA 表达上升。NLRP3 在炎症起始时招募 ASC 和 pro-caspase-1 组装成复合物,而复合物通过切割作用,将 pro-caspase-1 和

pro-IL-1 β 进行切割,形成活性 caspase-1 和 IL-1 β ,启动细胞凋亡和炎症因子的释放。由于 NLRP3 也是氧化应激调控的关键点,所以本研究显示,在肝损伤炎症反应中 MDA 的表达上调,IL-6 是一种炎症因子,在多种炎症反应中表达均增高。本研究肝脏病理结果显示,樟芝多糖干预后, NLRP3 小体的表达得到了抑制,肝脏病理中炎症反应抑制,虽然 NLRP3 激活可以代表炎症反应的激活,但是炎症因子需要得到释放后才可以作用在邻细胞中,所以笔者推测,肝脏组织中虽然 NLRP3 得到了激活,但是炎症因子释放受阻,所以肝脏病理中炎症反应得到了抑制,这也提示樟芝多糖的作用除了与 NLRP3 的激活抑制有关,还与炎症因子的释放有关。

综上所述,樟芝多糖对于急性肝损伤有着很好的干预作用,其作用机制与降低炎性小体 NLRP3 及其相关炎症因子的表达有关,是一种具有开发潜力的多糖类药物。

REFERENCES

- [1] 吴婧雯, 张继明. 戊型肝炎病毒感染引起急性肝衰竭[J]. 肝脏, 2017, 22(6): 497, 555.
- [2] HUANG H, CHEN H W, EVANKOVICH J, et al. Histones activate the NLRP3 inflammasome in Kupffer cells during sterile inflammatory liver injury [J]. J Immunol, 2013, 191(5): 2665-2679.
- [3] WANG L P, LU X L, ZHAO Z J. Overview of *Antrodia cantharata* research [J]. Pharm Today(今日药学), 2017, 27(2): 140-144.
- [4] SHARMA A, TATE M, MATHEW G, et al. Oxidative stress and NLRP3-inflammasome activity as significant drivers of diabetic cardiovascular complications: therapeutic implications [J]. Front Physiol, 2018(9): 114.
- [5] HUANG H, CHEN H W, EVANKOVICH J, et al. Histones activate the NLRP3 inflammasome in Kupffer cells during sterile inflammatory liver injury [J]. J Immunol, 2013, 191(5): 2665-2679.
- [6] 张东柱. 台湾特有珍贵药用真菌牛樟芝[J]. 食药菌, 2011, 19(1): 33-34.
- [7] DU Y C, WU T Y, CHANG F R, et al. Chemical profiling of the cytotoxic triterpenoid-concentrating fraction and characterization of ergostane stereo-isomer ingredients from *Antrodia camphorata* [J]. J Pharm Biomed Anal, 2012(58): 182-192.
- [8] LU M C, EL-SHAZLY M, WU T Y, et al. Recent research and development of *Antrodia cinnamomea* [J]. Pharmacol Ther, 2013, 139(2): 124-156.
- [9] YANG Y, GUAN Q B, ZHANG X L, et al. Protective effect of polysaccharides from ethanol precipitation in *Antrodia cinnamomea* on acute liver injury in mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(11): 1530-1534.
- [10] HANSSON G K, KLARESKOG L. Pulling down the plug on atherosclerosis: cooling down the inflammasome [J]. Nat Med,

- 2011, 17(7): 790-791.
- [11] SCHRODER K, ZHOU R B, TSCHOPP J. The NLRP3 inflammasome: a sensor for metabolic danger? [J]. Science, 2010, 327(5963): 296-300.
- [12] JIN H S, PARK J K, JO E K. Toll-like receptors and NOD-like receptors in innate immune defense during pathogenic infection [J]. J Bacteriol Virol, 2014, 44(3): 215.
- [13] FRANCHI L, EIGENBROD T, MUÑOZ-PLANILLO R, et al. The inflammasome: a caspase-1-activation platform that regulates immune responses and disease pathogenesis [J]. Nat Immunol, 2009, 10(3): 241-247.
- [14] KIM S J, LEE S M. NLRP3 inflammasome activation in D-galactosamine and lipopolysaccharide-induced acute liver failure: role of heme oxygenase-1 [J]. Free Radic Biol Med, 2013(65): 997-1004.
- [15] LEEMANS J C, CASSEL S L, SUTTERWALA F S. Sensing damage by the NLRP3 inflammasome [J]. Immunol Rev, 2011, 243(1): 152-162.
- [16] KIM H Y, KIM S J, LEE S M. Activation of NLRP3 and AIM2 inflammasomes in Kupffer cells in hepatic ischemia/reperfusion [J]. FEBS J, 2015, 282(2): 259-270.
- [17] KER Y B, PENG C C, CHANG W L, et al. Hepatoprotective bioactivity of the glycoprotein, antrodan, isolated from *Antrodia cinnamomea* Mycelia [J]. PLoS One, 2014, 9(4): e93191. DOI: 10.1371/journal.pone.0093191.
- [18] TSAI M C, SONG T Y, SHIH P H, et al. Antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from *Antrodia cinnamomea* in submerged culture [J]. Food Chem, 2007, 104(3): 1115-1122.
- [19] LU Z M, TAO W Y, XU H Y, et al. Further studies on the hepatoprotective effect of *Antrodia camphorata* in submerged culture on ethanol-induced acute liver injury in rats [J]. Nat Prod Res, 2011, 25(7): 684-695.
- [20] GOKILA VANI M, KUMAR K J, LIAO J W, et al. Antcin C from *Antrodia cinnamomea* protects liver cells against free radical-induced oxidative stress and apoptosis *in vitro* and *in vivo* through nrf2-dependent mechanism [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013(2013): 296082. Doi: 10.1155/2013/296082.
- [21] CHIANG C C, BEEN H C. Processing characteristics of submerged fermentation of *Antrodia cinnamomea* in airlift bioreactor [J]. Biochem Eng J, 2013(73): 65-71.
- 收稿日期: 2018-07-17
(本文责编: 李艳芳)