

# 基于代谢组学研究柴胡皂苷C对急性肝损伤小鼠的保护作用<sup>△</sup>

李新存\*,彭东辉,王永福,施亚敏,吴梦娟,付智慧,王娟<sup>#</sup>(郑州大学第一附属医院中药科,郑州 450052)

中图分类号 R285.5;R965

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2025)05-0552-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.05.08



**摘要 目的** 基于血清代谢组学研究柴胡皂苷C(SSC)对四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)诱导的急性肝损伤(ALI)小鼠的保护作用及机制。**方法** 将40只小鼠按随机数字表法分为空白组(水)、模型组(水)、阳性对照药组(联苯双酯滴丸,150 mg/kg)和SSC低、高剂量组(2.5、10 mg/kg),每组8只,每天灌胃水/药物1次,连续7 d。末次给药1 h后,除空白组外的其余各组小鼠均腹腔注射0.2%CCl<sub>4</sub>橄榄油溶液以建立ALI模型。造模17 h后,计算小鼠肝指数,检测小鼠血清中天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、乳酸脱氢酶(LDH)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(IL-6)、IL-1 $\beta$ 水平,观察小鼠肝组织病理学变化,并采用液质联用法对小鼠血清进行代谢组学分析。**结果** 与空白组比较,模型组小鼠肝指数和ALT、AST、LDH、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平均显著升高( $P<0.01$ );肝细胞出现水肿、空泡变性并有较多坏死,可见炎症细胞大量浸润。与模型组比较,SSC高剂量组小鼠肝指数和血清指标水平均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且肝组织病理学损伤明显改善。代谢组学研究结果显示,与模型组比较,SSC高剂量组小鼠血清中上调的差异代谢物有63个、下调的有256个(包括前列腺素B<sub>2</sub>、20-羟基白三烯B<sub>4</sub>、5-羟色氨酸、7 $\alpha$ -羟基胆固醇等代谢物),主要涉及花生四烯酸代谢、5-羟色胺突触、初级胆汁酸生物合成等代谢途径。**结论** 高剂量SSC可通过下调前列腺素B<sub>2</sub>、20-羟基白三烯B<sub>4</sub>等关键代谢物水平,减少花生四烯酸代谢、5-羟色胺突触、初级胆汁酸生物合成等代谢途径,进而对CCl<sub>4</sub>诱导的ALI小鼠发挥保护作用。

**关键词** 柴胡皂苷C;急性肝损伤;代谢组学;差异代谢物;花生四烯酸代谢;5-羟色胺突触;初级胆汁酸生物合成

## Study on the protective effect of saikosaponin C on acute liver injury in mice based on metabolomics

LI Xincun, PENG Donghui, WANG Yongfu, SHI Yamin, WU Mengjuan, FU Zhihui, WANG Juan (Dept. of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

**ABSTRACT OBJECTIVE** To investigate the protective effect and mechanism of saikosaponin C (SSC) on acute liver injury (ALI) in mice induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) based on serum metabolomics. **METHODS** Forty mice were divided into blank group (water), model group (water), positive control drug group (Biphenyl diester drop pills, 150 mg/kg), and SSC low- and high-dose groups (2.5, 10 mg/kg) using the random number table method, with 8 mice in each group. They were given water/relevant drugs, once a day, for 7 consecutive days. One hour after the last administration, all mice were intraperitoneally injected with 0.2% CCl<sub>4</sub> olive oil to induce ALI model, except for the blank group. After 17 hours of the modeling, the liver index of mice was calculated. The levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), and IL-1 $\beta$  in serum of mice were detected. The histopathological changes of liver tissue were observed. Meanwhile, the serum metabolomics of mice were analyzed by liquid chromatography-mass spectrometry. **RESULTS** Compared with the blank group, the levels of liver index, ALT, AST, LDH, TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-1 $\beta$  in the model group were significantly increased ( $P<0.01$ ). Hepatocytes were edema, vacuolar degeneration, more necrosis, and a large number of inflammatory cells were infiltrated. Compared with the model group, liver index and serum index levels of mice were significantly decreased ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), accompanied by marked improvement in histopathological damage to the liver tissue. The metabolomics results showed that compared with the model group, there were 63 up-regulated and 256 down-regulated differential metabolites in the serum of mice in the SSC high-dose group, including prostaglandin B<sub>2</sub>, 20-hydroxy-leukotriene B<sub>4</sub>, 5-

hydroxy-L-tryptophan, 7 $\alpha$ -hydroxycholesterol, etc.; these metabolites were primarily involved in metabolic pathways such as arachidonic acid metabolism, 5-hydroxytryptamine synapse, primary bile acid biosynthesis. **CONCLUSIONS** SSC exerts a protective effect against CCl<sub>4</sub>-induced ALI by down-regulating the level of key metabolites such as

**△基金项目** 河南省自然科学基金项目(No.242300420397);河南省医学科技攻关计划联合共建项目(No.LHGJ20240259)

\*第一作者 主管药师,硕士。研究方向:中药临床药学。E-mail: 2008lixincun@163.com

#通信作者 主任药师,硕士。研究方向:中药临床药学。E-mail: wangjuan6691@163.com

prostaglandin B<sub>2</sub> and 20-hydroxy-leukotriene B<sub>4</sub>, and then reducing metabolic pathways such as arachidonic acid metabolism, 5-hydroxytryptamine synapse, and primary bile acid biosynthesis.

**KEYWORDS** saikosaponin C; acute liver injury; metabolomics; differential metabolite; arachidonic acid metabolism; 5-hydroxytryptamine synapse; primary bile acid biosynthesis

肝脏作为人体最大的解毒器官,其健康与否与机体健康密切相关。据统计发现,中国各类肝脏疾病患者达4亿多人,该类疾病已经成为危及人们健康最普遍的疾病之一<sup>[1]</sup>。化学毒物、病毒、细菌、乙醇、自身免疫病等因素均可诱发肝脏疾病<sup>[2]</sup>。临幊上,常采用化学药治疗肝脏疾病,但其具有副作用大、易产生耐药性等缺点。而中药因具有高效、安全等优点,近年来在抗急性肝损伤(acute liver injury, ALI)方面颇受关注<sup>[3]</sup>。

柴胡为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. 的干燥根,是一种常用的传统中药,具有疏散退热、疏肝解郁、升举阳气的功效。现代研究发现,柴胡主要含有皂苷、挥发油、黄酮和多糖等成分,其中柴胡皂苷具有显著的抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、保肝等作用<sup>[4]</sup>。有研究报道,柴胡皂苷C(saikosaponin C, SSC)具有显著的抗炎作用,同时也可靶向作用于肝细胞核因子1 $\alpha$ (hepatocyte nuclear factor 1 $\alpha$ , HNF1 $\alpha$ )和HNF4 $\alpha$ ,抑制病毒前基因组RNA合成,发挥抗乙型肝炎病毒的作用<sup>[5-6]</sup>。然而,SSC是否具有抗ALI的作用及可能机制尚不清楚。代谢组学是一种对内源性小分子代谢物(相对分子质量小于1 000)进行系统分析的方法,已广泛应用于疾病的发病机制和中药对疾病的干预作用及可能机制的研究中<sup>[7]</sup>。鉴于此,本研究基于代谢组学探讨了SSC抗ALI的作用及其机制,旨在为其进一步的开发与应用奠定实验基础。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有:Eclipse Ci-L型正置白光拍照显微镜(日本Nikon公司),SpectraMax i3x型多功能酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司],UHPLC-Exploris480型液质联用(LS-MS)系统,micro21R型高速低温离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司),SCI-VS型涡旋混匀器(美国Scilogex公司)等。

### 1.2 主要药品与试剂

本研究所用的主要药品与试剂有:SSC对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号B20149,纯度 $\geq 98\%$ ),联苯双酯滴丸(广州白云山星群药业股份有限公司,批号RF40009,规格1.5 mg/粒),肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(interleukin 6, IL-

6)、IL-1 $\beta$ 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(杭州联科生物科技有限公司,批号分别为EK282、EK206、EK201B),丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司,批号分别为C009-2-1、C010-2-1、A020-2-2),苏木精-伊红(HE)染液(武汉塞维尔生物科技有限公司,批号G1101);甲醇、乙腈、异丙醇、甲酸均为色谱纯,水为超纯水。

### 1.3 动物

本研究所用动物为SPF级雄性C57BL/6小鼠,共40只,6周龄,体重18~20 g,购于河南斯克贝斯生物科技股份有限公司,动物生产许可证号为SCXK(豫)2020-0005。所有小鼠均饲养于温度25 °C、昼12 h/夜12 h交替、相对湿度50%~60%的SPF级环境中,适应性饲养7 d后进行后续实验,饲养期间自由饮水、进食。本动物实验符合《实验动物护理和使用指南》中相关要求,在郑州大学实验动物中心完成,且经该单位动物福利伦理委员会审查批准(批准号:ZZU-LAC20240906[12])。

## 2 方法

### 2.1 动物分组、给药及造模

将40只小鼠按照随机数字表法分为空白组、模型组、阳性对照药组(联苯双酯滴丸,150 mg/kg,成人临床等效剂量)和SSC低、高剂量组(分别简写为SSC-L、SSC-H组,给药剂量分别为2.5、10 mg/kg,结合文献[8]与预实验结果确定),每组8只。空白组、模型组小鼠每天灌胃等体积水,各给药组小鼠每天灌胃相应药物,灌胃体积均为0.01 mL,每天给药1次,连续7 d。末次给药1 h后,空白组小鼠腹腔注射橄榄油,余下各组小鼠腹腔注射0.2%四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)橄榄油(10 mL/kg)以建立ALI模型<sup>[9]</sup>。

### 2.2 样本取材及处理

CCl<sub>4</sub>造模17 h后,称定小鼠体重,腹腔注射戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉小鼠,眼球取血,将全血在4 °C下以4 000 r/min离心15 min,收集上层血清。取血完成后解剖小鼠,取全部肝组织,称质量。将部分肝组织用4%多聚甲醛固定,用于组织病理学观察;余下肝组织及血清均保存于-80 °C冰箱中,用于后续实验。

### 2.3 肝指数计算和生化指标检测

根据肝脏质量和小鼠体重,计算小鼠肝指数[肝指数(%)=肝脏质量(g)/体重(g)×100%]。取小鼠血清样品,根据相应试剂盒说明书方法操作,检测血清中ALT、AST、LDH、TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 水平。

### 2.4 肝组织病理学观察

取“2.2”项下4%多聚甲醛固定的肝组织,经脱水、石蜡包埋、切片后,进行HE染色,然后在光学显微镜下观察小鼠肝组织病理学形态变化。

### 2.5 血清代谢组学分析

#### 2.5.1 样品制备

根据血清指标和病理切片分析结果,取“2.2”项下冻存的空白组、模型组、SSC-H组小鼠血清,常规解冻后,分别吸取80  $\mu$ L置于2 mL离心管中,加入240  $\mu$ L提取液[V(甲醇):V(乙腈)=1:1]充分涡旋提取;使用预冷的离心机,在4  $^{\circ}$ C下以13 000 r/min离心10 min(下同),取上清液移至新的离心管中,以氮气吹干;再加入100  $\mu$ L复溶液[V(乙腈):V(水)=1:1]涡旋复溶,离心,每管吸取70  $\mu$ L上清液至进样小瓶,作为待测样品溶液。同时分别吸取各样品20  $\mu$ L至同一离心管中,涡旋混匀,离心,取上清液至进样小瓶中作为质控(quality control, QC)样本溶液,待上机检测。

#### 2.5.2 检测条件

采用LC-MS法进行测定。将各组样品随机排序,每6个样品插入1个QC样本进样检测。超高效液相色谱系统的检测条件为:采用Waters ACQUITY UPLC HSS T<sub>3</sub>色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu$ m),以95%水-5%乙腈(含0.1%甲酸)为流动相A、47.5%乙腈-47.5%异丙醇-5%水(含0.1%甲酸)为流动相B进行等度洗脱,进样量为3  $\mu$ L,柱温为40  $^{\circ}$ C。质谱系统的检测条件为:采用热喷雾离子源,在正、负离子扫描模式下检测;离子源电压为2 800 V;鞘气压力为50 Arb;辅助气压力为15 Arb;毛细管温度为350  $^{\circ}$ C;加热温度为400  $^{\circ}$ C;分辨率为60 000;质谱扫描范围为m/z 70~1 050。

#### 2.5.3 数据分析

将LC-MS检测的原始数据导入代谢组学处理软件Progenesis QI进行数据处理,然后进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA),并绘制火山图。根据OPLS-DA模型得到的变量权重值(variable importance in the projection, VIP)值和P值来确定差异代谢物,判断标准为VIP>1且P<0.05<sup>[10]</sup>。将差异代谢物通过京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库进行代谢通路注释,获得相关代谢通路。

### 2.6 统计学方法

采用SPSS Statistics 25软件进行统计分析。满足正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐性时组间两两比较采用LSD-t检验,方差不齐时组间两两比较则采用Tamhane's T2检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 SSC对ALI小鼠肝指数和肝功能的影响

与空白组比较,模型组小鼠肝指数和血清中ALT、AST、LDH水平均显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,阳性对照药组、SSC-H组小鼠肝指数和血清中ALT、AST、LDH水平均显著降低( $P<0.05$ )。结果见表1。

表1 各组小鼠肝指数和血清中肝功能指标测定结果( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	肝指数/%	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	LDH/(U/L)
空白组	3.97±0.36	16.82±5.60	25.94±7.71	3 718.62±335.68
模型组	4.69±0.32 <sup>a</sup>	250.65±30.73 <sup>a</sup>	120.92±1.83 <sup>a</sup>	5 705.76±221.43 <sup>a</sup>
阳性对照药组	4.23±0.38 <sup>b</sup>	211.42±28.08 <sup>b</sup>	95.54±17.71 <sup>b</sup>	5 320.01±345.02 <sup>b</sup>
SSC-L组	4.47±0.20	223.01±29.28	102.02±20.66	5 591.05±222.17
SSC-H组	4.23±0.35 <sup>b</sup>	171.64±67.22 <sup>b</sup>	82.64±30.54 <sup>b</sup>	5 018.11±574.19 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>:与空白组比较,  $P<0.01$ ; <sup>b</sup>:与模型组比较,  $P<0.05$ 。

### 3.2 SSC对ALI小鼠炎症因子水平的影响

与空白组比较,模型组小鼠血清中IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平均显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,阳性对照药组、SSC-H组小鼠血清中IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。结果见表2。

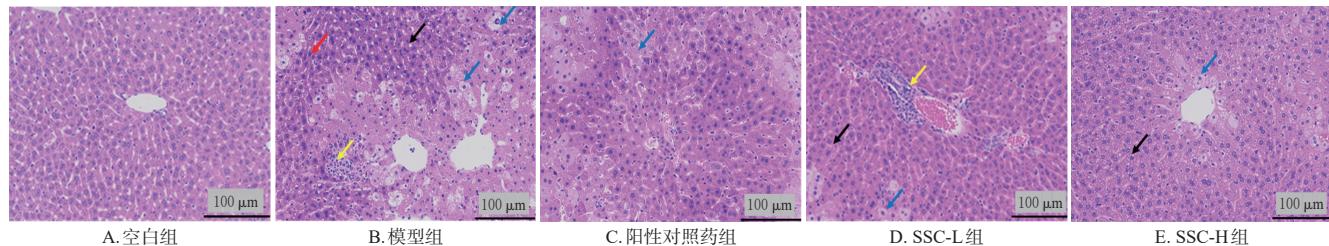
表2 各组小鼠血清中炎症因子水平测定结果( $\bar{x}\pm s, n=8, \text{pg/mL}$ )

组别	IL-6	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$
空白组	28.76±9.18	199.54±44.20	3.57±1.18
模型组	296.30±87.63 <sup>a</sup>	309.42±4.58 <sup>a</sup>	10.49±3.93 <sup>a</sup>
阳性对照药组	163.17±58.33 <sup>b</sup>	204.98±56.03 <sup>b</sup>	5.82±1.36 <sup>c</sup>
SSC-L组	214.34±74.00	283.50±64.99	6.95±1.94
SSC-H组	165.92±49.40 <sup>b</sup>	250.34±51.63 <sup>c</sup>	4.38±2.03 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>:与空白组比较,  $P<0.01$ ; <sup>b</sup>:与模型组比较,  $P<0.01$ ; <sup>c</sup>:与模型组比较,  $P<0.05$ 。

### 3.3 SSC对ALI小鼠肝组织病理学的影响

空白组小鼠肝细胞排列紧密,无坏死和炎症细胞浸润。模型组小鼠可见较多肝细胞水肿、坏死及空泡变性,胞浆疏松淡染,胞核固缩深染或碎裂溶解,并存在炎症细胞浸润。与模型组比较,各给药组小鼠肝组织病理学形态均有不同程度缓解,肝细胞坏死和空泡减少,可见少量炎症细胞浸润。结果见图1。



注:黑色箭头所指为肝细胞空泡变性;黄色箭头所指为炎症细胞浸润;蓝色箭头所指为肝细胞水肿;红色箭头所指为肝细胞坏死。

图1 各组小鼠肝组织病理学观察结果(HE染色)

### 3.4 血清代谢组学研究结果

#### 3.4.1 SSC对ALI小鼠血清代谢物的影响

PCA结果(图2)显示,空白组、模型组、SSC-H组样本明显分离,说明3组血清样本中的代谢物发生了变化<sup>[11]</sup>。OPLS-DA结果(图3)显示,模型组与空白组的 $R^2Y$ (表示模型的累积解释率)和 $Q^2$ (表示模型的预测能力)分别是0.993、0.898,SSC-H组与模型组的 $R^2Y$ 和 $Q^2$ 分别是0.997、0.761,表明所有OPLS-DA模型均有效;且200次置换检验的截距均为负数( $Q^2$ 分别是-0.023 1、-0.011 4),表明模型没有过拟合。火山图分析结果(图4)显示,模型组与空白组比较,共有627个血清差异代谢物(上调122个,下调505个);SSC-H组与模型组比较,共有319个血清差异代谢物(上调63个,下调256个)。SSC-H组与模型组比较的VIP值排前20名的血清差异代谢物详见表3。

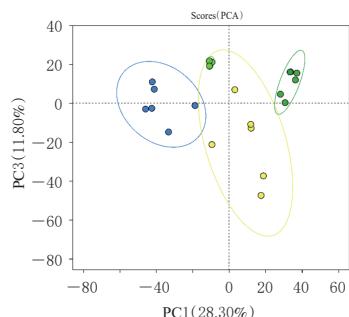


图2 各组小鼠血清代谢物的PCA得分图

#### 3.4.2 SSC对ALI小鼠血清代谢通路的影响

差异代谢物的KEGG通路富集分析结果显示,模型组主要涉及丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,花生四烯酸代谢,鞘脂信号通路等代谢途径;SSC-H组主要涉及花生四烯酸代谢(如关键差异代谢物前列腺素B<sub>2</sub>和20-羟基白三烯B<sub>4</sub>)、5-羟色胺突触(如5-羟色氨酸)、初级胆汁酸生物合成(如7 $\alpha$ -羟基胆固醇、3 $A$ ,7 $A$ -二羟基-5 $B$ -胆甾烷、7 $\alpha$ -羟基-3-氧代-4-胆甾烯酸酯)等代谢途径。各组P值排前15名(按从小到大排序)的代谢途径如图5所示。

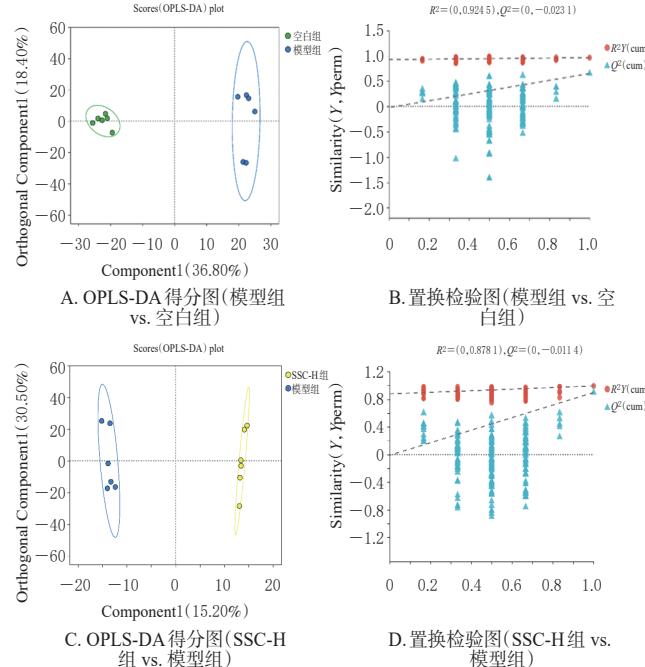


图3 各组小鼠血清代谢物的OPLS-DA得分图和置换检验图

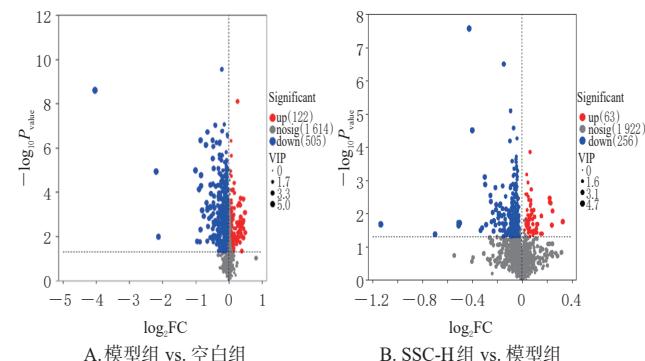


图4 各组小鼠血清代谢物分析的火山图

### 4 讨论

研究发现,肝损伤的发生常伴随着肝指数、ALT、AST、ALP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平的异常升高,以及肝组织的病理学损伤,如肝细胞肿胀与坏死、炎症细胞浸润等<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,经CCl<sub>4</sub>诱导后,模型组小鼠的肝指数及血清中ALT、AST、LDH、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平均显著升高,肝组织出现肝细胞水肿、空泡变性并

表3 SSC-H组与模型组比较VIP值排前20名的血清差异代谢物

序号	代谢物名称	P	分子式	保留时间/min	变化趋势
1	前列腺素	0.02117	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub>	5.97138	↓
2	乙基葡萄糖醛酸苷	0.00068	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	0.66427	↓
3	2,4-二羟基噻唑	0.01761	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> NO <sub>2</sub> S	1.24798	↑
4	胍乙基二硫化物	0.00134	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	2.32095	↓
5	11,12-环氧二十碳三烯酸	0.03224	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	5.85033	↓
6	N6-半乳糖醛酸-L-赖氨酸	0.00287	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	5.80935	↓
7	7α-羟基胆固醇	0.00038	C <sub>25</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>	6.65107	↓
8	3-羟基辛二酸	0.03386	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	4.06538	↓
9	3A,7A-二羟基-5B-胆甾烷	0.01688	C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	6.76680	↓
10	3-羟基十四烷二酸	0.00565	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	6.13558	↓
11	17-雌二醇乙酸环辛酯	0.00540	C <sub>28</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	6.23078	↓
12	13-去甲基螺内酯C	0.00456	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>7</sub>	5.43373	↑
13	S-(2-羧乙基)-L-胱氨酸	0.00838	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>4</sub> S	3.84222	↑
14	7α-羟基-3-氧代-4-胆甾烯酸酯	0.03323	C <sub>27</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	6.35412	↓
15	前列腺素B <sub>2</sub>	0.00516	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	5.65230	↓
16	噻唑烷-4-羧酸	0.00483	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> S	3.84222	↑
17	10-甲酰-3-氯叶酸酯	0.01641	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	3.51805	↓
18	5-羟色氨酸	0.02437	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.78372	↓
19	3-O-甲基尼维乌辛A	0.01005	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>8</sub>	5.90682	↓
20	20-羟基白三烯B <sub>4</sub>	0.01218	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	6.20345	↓

↑:与模型组比较,代谢物水平上调;↓:与模型组比较,代谢物水平下调。

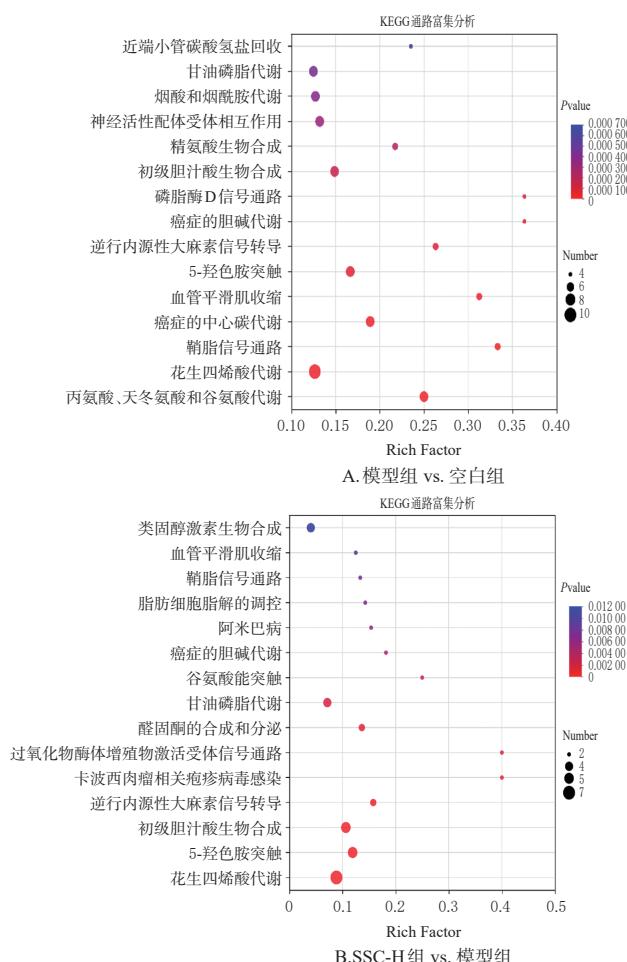


图5 各组血清差异代谢物的KEGG通路富集分析图

有较多坏死等病理损伤,表明ALI小鼠的肝组织显著受损。与模型组比较,高剂量SSC可显著逆转上述肝指数及血清指标变化,缓解肝组织病理损伤,提示其具有显著的抗ALI作用。

代谢组学技术具有整体性、综合性和动态性的特点,常用于研究中药治疗ALI的作用机制。为进一步研究SSC对ALI小鼠的保护作用及其机制,本研究采用血清代谢组学方法对空白组、模型组和SSC-H组小鼠的血清进行分析。结果显示,与模型组比较,SSC-H组2,4-二羟基噻唑等63个差异代谢物水平上调,前列腺素B<sub>2</sub>等256个差异代谢物水平下调,这提示高剂量SSC可通过调控上述代谢物发挥肝保护作用。

肝脏是体内花生四烯酸及其代谢物灭活和清除的主要器官。有研究发现,病理状态下,花生四烯酸会代谢生成强促炎介质前列腺素、白三烯等物质,促进机体炎症介质如TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6的释放,进一步加重机体的炎症反应<sup>[13]</sup>。本研究发现,与模型组比较,SSC-H组小鼠血清中前列腺素B<sub>2</sub>、20-羟基白三烯B<sub>4</sub>等代谢物水平降低,结合KEGG通路富集分析结果,提示高剂量SSC可通过抑制花生四烯酸代谢,抑制体内过度的炎症反应,从而发挥对ALI小鼠的保护作用。5-羟色氨酸是芳香族氨基酸L-色氨酸的衍生物,有研究发现,机体内血清5-羟色氨酸的含量与其炎症和氧化应激水平呈正相关<sup>[14]</sup>。本研究发现,与模型组比较,SSC-H组小鼠血清中5-羟色氨酸水平显著降低,结合KEGG通路富集分析结果,提示高剂量SSC可抑制5-羟色胺突触代谢发挥对ALI小鼠的保护作用。肝脏是胆汁酸的主要合成器官,肝脏中的胆固醇在各种酶的催化下生成初级胆汁酸,而初级胆汁酸经肠-肝循环维持代谢稳态;若胆固醇及初级胆汁酸在肝脏中过度累积,可引发肝细胞损伤和炎症反应。因此,初级胆汁酸代谢稳态与肝脏正常生理功能的发挥密切相关<sup>[15]</sup>。本研究发现,模型组小鼠血清中7α-羟基胆固醇、3A,7A-二羟基-5B-胆甾烷、7α-羟基-3-氧代-4-胆甾烯酸酯等胆固醇类代谢物水平均显著升高,而高剂量SSC可显著降低模型小鼠血清中上述差异代谢物水平,再结合KEGG通路富集分析结果,提示高剂量SSC可恢复初级胆汁酸生物合成的稳态,从而发挥肝保护作用。

综上,高剂量SSC可能通过减少花生四烯酸代谢、5-羟色胺突触、初级胆汁酸生物合成等代谢途径发挥肝保护作用。后续,本课题组将设计体内外实验进一步研究SSC抗ALI的分子机制,进而为SSC在临床治疗中的应用提供依据。

## 参考文献

- [1] 杨文,俞渊,庞澐安,等.中医药调控肝脏疾病Th17/Treg免疫失衡的研究进展[J].现代中西医结合杂志,2024,33(1):135-141.
- YANG W, YU Y, PANG J A, et al. Research progress on the regulation of Th17/Treg immune imbalance in liver diseases by traditional Chinese medicine[J]. J Mod Int Chin West Med, 2024, 33(1):135-141.
- [2] 邓昕雨,马晓.肝损伤发生机制及其治疗研究进展[J].中药与临床,2022,13(5):118-123,128.
- DENG X Y, MA X. Research progress on the pathogenesis and treatment of liver injury[J]. Pharm Clin Chin Mater Med, 2022, 13(5):118-123,128.
- [3] RANI J, DHULL S B, ROSE P K, et al. Drug-induced liver injury and anti-hepatotoxic effect of herbal compounds: a metabolic mechanism perspective[J]. Phyto-medicine, 2024, 122:15514.
- [4] 袁林,李万利,斯玮,等.柴胡皂苷的生物学功能研究进展[J].中国兽医学报,2024,44(6):1307-1315.
- YUAN L, LI W L, JIN W, et al. Research progress in biological functions of saikosaponins[J]. Chin J Vet Sci, 2024, 44(6):1307-1315.
- [5] BAI Z J, GAO T T, ZHANG R, et al. Inhibition of IL-6 methylation by saikosaponin C regulates neuroinflammation to alleviate depression[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 118:11004.
- [6] PAN Y C, KE Z Y, YE H, et al. Saikosaponin C exerts anti-HBV effects by attenuating HNF1 $\alpha$  and HNF4 $\alpha$  expression to suppress HBV pgRNA synthesis[J]. Inflamm Res, 2019, 68(12):1025-1034.
- [7] ZHAO M, CHE Y, GAO Y, et al. Application of multi-omics in the study of traditional Chinese medicine[J]. Front Pharmacol, 2024, 15:143186.
- [8] LI X, GE J D, LI Y J, et al. Integrative lipidomic and transcriptomic study unravels the therapeutic effects of saikosaponins A and D on non-alcoholic fatty liver disease[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(11):3527-3541.
- [9] 郑韦唯.中药复方预防急性肝损伤的分子机制[D].长春:吉林大学,2024.
- ZHENG W W. Molecular mechanism of traditional Chinese medicine compound in preventing acute liver injury[D]. Changchun: Jilin University, 2024.
- [10] 张文森,崔娜,苏发智,等.基于代谢组学研究生地黄对寒证大鼠的药性[J].中草药,2024,55(7):2237-2247.
- ZHANG W S, CUI N, SU F Z, et al. Medicinal properties of Rehmanniae Radix in rats with cold syndrome based on metabolomics[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55 (7) : 2237-2247.
- [11] ZHANG Z H, SUN Y P, ZENG Y N, et al. Elucidating the hepatoprotective mechanisms of cholic acid against CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury: a transcriptomic and metabolic study[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 328:118052.
- [12] 王景媛,张舒雯,张桥,等.龙胆酒炙前后对四氯化碳诱导小鼠肝损伤保护作用的对比研究[J].中草药,2024,55(18):6226-6237.
- WANG J Y, ZHANG S W, ZHANG Q, et al. Comparative study on protective effect of Gentianae Radix Et Rhizoma before and after processing with wine against carbon tetrachloride induced liver damage in mice[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(18):6226-6237.
- [13] 何贤芳,王万林,王鸿颖,等.艾纳香油通过NF- $\kappa$ B非经典信号影响花生四烯酸代谢缓解LPS所致巨噬细胞的炎症反应[J].中山大学学报(医学科学版),2024,45(2):216-225.
- HE X F, WANG W L, WANG H Y, et al. *Blumea balsamifera* (L.) DC oil alleviates LPS-induced inflammatory response in macrophages by affecting arachidonic acid metabolism via NF- $\kappa$ B nonclassical pathway[J]. J Sun Yat Sen Univ Med Sci, 2024, 45(2):216-225.
- [14] 石磊,王建杰,周成福.丹皮酚对佐剂性关节炎模型大鼠关节炎5-羟色氨酸及白介素族的影响[J].中国生化药物杂志,2016,36(10):25-28.
- SHI L, WANG J J, ZHOU C F. Effect of paeonol on 5-hydroxytryptophan and interleukin family of adjuvant arthritis rat model with arthritis[J]. Chin J Biochem Pharm, 2016, 36(10):25-28.
- [15] 梁子晗,李佳辉,程爽,等.何首乌致肝损伤的信号通路及其作用机制[J].临床肝胆病杂志,2024, 40 (3) : 626-632.
- LIANG Z H, LI J H, CHENG S, et al. Mechanism of action of *Polygonum multiflorum* in inducing liver injury: a study based on signaling pathways[J]. J Clin Hepatol, 2024, 40(3):626-632.

(收稿日期:2024-11-14 修回日期:2025-02-17)

(编辑:林 静)