

# 化香虫茶总黄酮 对 CCl<sub>4</sub> 诱导小鼠肝损伤的预防效果

王睿, 孙鹏\*

(重庆第二师范学院 生物与化学工程系, 重庆 400067)

**摘要:**本文对虫茶总黄酮的肝损伤预防效果进行了研究。虫茶黄酮可以使 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝损伤小鼠血清中的谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)和甘油三酯(TG)含量下降,升高血清中的还原型谷胱甘肽(GSH)含量。同时,虫茶黄酮还可以使肝损伤小鼠肝脏中的MDA和TG含量下降,GSH含量上升,且100mg/kg浓度虫茶黄酮的效果更显著,能够接近常用的肝病治疗药物水飞蓟。对小鼠血清中细胞因子的检测也发现灌胃虫茶黄酮小鼠的IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 水平低于对照组小鼠,接近正常组和药物水飞蓟组。组织病理切片证明虫茶黄酮可以减轻CCl<sub>4</sub>对肝组织的破坏,保护肝脏细胞。虫茶黄酮灌胃小鼠相对于对照组小鼠肝脏组织中的炎症相关基因NF- $\kappa$ B被下调,I $\kappa$ B- $\alpha$ 被上调。结果表明虫茶黄酮有较好的肝损伤预防效果。

**关键词:**类黄酮,虫茶,肝损伤,细胞因子,表达

## Preventive effect of total flavonoids of *Platycarya strobilacea* insect tea on CCl<sub>4</sub> induce liver injury in mice

WANG Rui, SUN Peng\*

(Department of Biological and Chemical Engineering, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, China)

**Abstract:** In this study, the liver injury preventive effect of total crude flavonoids of Insect tea (FIT) were determined. FIT could reduce the serum levels of AST, ALT, LDH, MDA, and FIT also could raise GSH level in mice by CCl<sub>4</sub> induced hepatic injury. After FIT treatment, the MDA, TG levels of liver tissues were decreased, and the GSH level was increased in mice. In addition, the 100mg/kg of FIT showed the stronger effect, and the effect was close to the hepatic drug of silymarin treatment. In serum cytokine level tests, the IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  levels of FIT treated mice were lower than liver injury control mice, these levels were close to the normal and silymarin treated mice. It was found that FIT could decrease the injury levels of CCl<sub>4</sub> induced hepatic tissues and protect the liver cells through the histopathology test. FIT down regulated the expression of NF- $\kappa$ B; and up regulated I $\kappa$ B- $\alpha$  expression in liver tissues of live injury mice compare to the control mice. These results proved that FIT had good preventive effect of liver injury.

**Key words:** flavonoid; insect tea; liver injury; cytokine; expression

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)11-0361-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.11.065

虫茶是一种制作方法特殊,利用化香夜蛾和化香树叶生产的茶饮品,主要产于贵州,湖南和四川等省份<sup>[1]</sup>。由于虫茶的生产还采用最原始的方法,且产地多集中在少数民族地区,所以产量有限,其生产难以工业化。虫茶的生产方式特殊,将野生的化香树叶等植物叶片放入竹篓中,在叶片之间淋上淘米水后将竹篓放置在房梁上待化香夜蛾等昆虫飞入产卵,幼虫孵化出后以叶片为食,排出的粪粒去除残渣后得到虫粪颗粒,再通过炒制等工艺便生产出虫

茶<sup>[2]</sup>。虫茶中含有多种对人体有益的成分,包括大量的氨基酸,茶黄酮,茶多酚和茶多糖<sup>[3]</sup>。

肝脏是重要的生理器官,发生严重损伤后会危及生命,其中由化学性肝毒性物质所造成的化学性肝损伤在肝损伤中是较为常见的,包括酒精、药物和化学毒性物质都可能造成化学性肝损伤。化学性肝损伤易发生,潜伏期短,且损伤的程度与刺激物剂量有直接关系,损伤可致肝细胞坏死、脂肪变形,严重的情况下会引起肝硬化和肝癌。在实验室条件下通

收稿日期: 2014-08-11

作者简介: 王睿(1982-),男,硕士,讲师,研究方向:食品营养和功能性食品。

\*通讯作者: 孙鹏(1983-),男,硕士,讲师,研究方向:天然产物和药学。

基金项目: 重庆市教委科学技术研究项目(KJ1401402)。

过动物实验已经证实植物黄酮对包括酒精性肝损伤和四氯化碳引发肝损伤有良好的抑制效果<sup>[4-5]</sup>。针对虫茶中含有较多的黄酮类化合物,本研究对贵州少数民族地区产虫茶中的黄酮提取物进行了动物体内实验,通过对 CCl<sub>4</sub> 诱导急性肝损伤小鼠的血液和肝脏指标的分析对虫茶黄酮的肝损伤预防效果进行了研究,这些研究结果将推动虫茶的进一步研究和为虫茶的推广提供支持依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

虫茶 贵州产化香虫茶;实验动物 购于重庆医科大学实验动物中心的清洁级 6 周龄雄性昆明小鼠(体重(25 ± 5)g,动物许可证:SCXK(渝)2012-0001),饲养条件控制在室温 22 ± 4℃,相对湿度 50% ± 20%。动物购入后正常饲养 7d 后进行实验。

AST、ALT、LDH、MDA 和 TG 试剂盒 南京建成生物工程研究所;IL-6、IL-12, TNF-α 和 IFN-γ 酶联免疫试剂盒 美国 Biolegend 公司;CycleTESTTM PLUS DNA 染色试剂盒 德国 Becton Dickinson 公司;Trizol 试剂、oligoDT18、RNase、dNTP 和 MLV 美国 Invitrogen 公司;RT-PCR(反转录聚合酶链式反应)引物 iNOS 和 COX-2 德国 Eppendorf 公司;水飞蓟素 美国 Sigma 公司;CCl<sub>4</sub> 诱导剂(CCl<sub>4</sub> 和橄榄油按 1:1 比例混合);其余试剂均为国产分析纯。

R1002VN 旋转蒸发仪 郑州长城科工贸有限公司;FD-1E-50 冷冻干燥机 重庆迈克科技公司;UV-2550 型紫外分光光度计 日本岛津公司;TG1650-WS 高速离心机 重庆春鑫科技有限公司;BX41 显微镜 日本奥林巴斯公司;Bio-Rad 680 酶标仪、Bio-Rad 小型水平电泳槽 美国 Bio-Rad 公司;ABI 2720 PCR 仪 美国 Applied Biosystems 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 虫茶黄酮的提取 虫茶冷冻干燥后粉碎。采用文献方法<sup>[6]</sup>,取 1kg 冷冻干燥的虫茶粉末,加入 10L 的 70% 乙醇溶液,再在 70℃ 水浴下浸提 4h,滤液过硅藻土除去脂溶性杂质,收集提取液再通过 ADS-17 树脂使黄酮类物质被树脂吸附,再用 90% 的乙醇溶液洗脱下树脂吸附的黄酮物质,最后旋转蒸发蒸干溶剂得到黄酮提取物。再取芦丁标准品,溶于 90% 的乙醇溶液,制成浓度为 10、20、30、40 和 50 μg/mL 浓度的芦丁标准液。再将苦丁虫茶黄酮提取物也溶于 90% 的乙醇溶液,用分光光度仪在 500nm 处测定吸光度,根据芦丁标准品溶液的标准曲线进行对比,计算得出虫茶黄酮提取物中黄酮物质(芦丁计)的纯度。

1.2.2 将实验用小鼠分为 5 组:正常组、对照组、50mg/kg 虫茶黄酮组、100mg/kg 虫茶黄酮组和水飞蓟药物组,每组 10 只。在前 14d 中,正常组和对照组小鼠每天灌一次胃蒸馏水(0.2mL);50mg/kg 虫茶黄酮组小鼠按浓度 50mg/kg(灌胃浓度:小鼠体重每 1kg 灌胃样品 50mg)灌胃 0.2mL 的虫茶黄酮一次;100mg/kg 虫茶黄酮组小鼠按浓度 100mg/kg 灌胃 0.2mL 的虫茶黄酮一次;水飞蓟药物组小鼠按浓度

100mg/kg 灌胃 0.2mL 的水飞蓟一次。第 14d 对所有小鼠实施灌胃后按 0.2mL/kg 对除正常组小鼠外其他小鼠腹腔注射 CCl<sub>4</sub> 肝损伤诱导剂,同时对所有小鼠禁食,但允许自由饮水,24h 后断颈处死小鼠,取心脏血离心分离 10min(4000r/min),取上层血清待用,同时解剖取肝脏待用<sup>[7]</sup>。

1.2.3 血清指标测定 各组小鼠血清中 AST、ALT、LDH、MDA、GSH 和 TG 含量按试剂盒操作说明书操作测定。

1.2.4 组织指标测定 将各组小鼠肝脏用生理盐水洗净加入 9 倍量生理盐水后用超声粉碎机粉碎后制成组织匀浆,组织中 MDA、GSH 和 TG 水平和 IL-6、IL-1β, TNF-α 和 IFN-γ 细胞因子水平按试剂盒操作说明书操作测定。

1.2.5 肝脏组织病理学观察 将小鼠肝组织固定在 10% 的福尔马林溶液中 24h,然后用乙醇脱水,再将肝组织包埋在石蜡中。将石蜡组织切为 4 μm 厚度,用苏木精和伊红染色后在显微镜下进行组织病理学观察。

### 1.2.6 RT-PCR 法检测肝组织中炎症相关基因表达

将小鼠肝脏用超声粉碎机粉碎后用 RNAzol 试剂提取肝组织中的 RNA。将提取的肝组织 RNA 浓度稀释到 1 μg/μL。在 2 μL 的肝组织 RNA 提取液中分别加入 oligoDT18, RNase, dNTP 和 MLV 酶各 1 μL, 5 × buffer 10 μL, 在 37℃、120min, 99℃、4min, 4℃、3min 的条件下合成 cDNA。然后以反转录-聚合酶链反应法扩增 NF-κB 和 IκB-α 表达,同时以持家基因作为对照内参照。最后将溴化乙锭加入琼脂中制成含有 1% 溴化乙锭的琼脂胶板,采用电泳检查 PCR 扩增产物<sup>[1]</sup>。

### 1.3 数据统计

对实验结果以平均值 ± 标准偏差表示后使用 SAS 统计软件对所得数据采用 one-way ANOVA 法分析数据结果在  $p < 0.05$  水平上是否具有显著性差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 虫茶黄酮提取物的纯度

以芦丁作为标准品测定植物样品提取物中总黄酮的含量是检测提取物总黄酮纯度的常用方法。通过测定 10~50 μg/mL 浓度的芦丁标准液的吸光度,得到总黄酮浓度的芦丁标准曲线为  $y = 0.001x - 0.0054$ ( $x$  为黄酮浓度, $y$  为吸光值,图 1)。通过对照标准曲线可以检测出虫茶黄酮提取物中黄酮类物质的含量达到 37.2%。

### 2.2 虫茶黄酮对 CCl<sub>4</sub> 诱发肝损伤小鼠血清中 AST、ALT 和 LDH 水平的影响

小鼠灌胃虫茶黄酮 14d 后,采用 CCl<sub>4</sub> 诱导肝损伤,通过检测小鼠血清中的特定指标可以判断肝损伤程度。AST、ALT 和 LDH 均是临床上检测肝病和肝损伤的重要指标,肝损伤对照组的 AST、ALT、AST/ALT 和 LDH 指标均比正常组显著提高( $p < 0.05$ ),虫茶黄酮可以减缓这些指标的升高,而且在 100mg/kg 浓度虫茶黄酮灌胃下,减缓得更多,接近水飞蓟药物

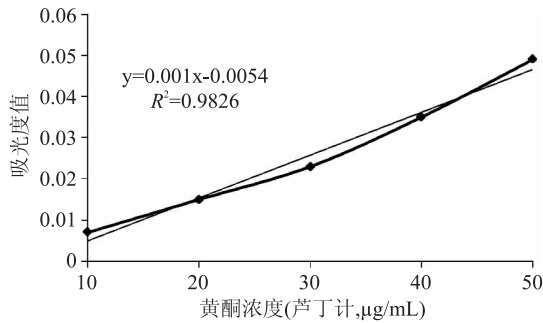


图1 芦丁标准液标准曲线

Fig.1 Standard curve of rutin standard liquid

组(表1)。ALT与AST主要分布在肝脏细胞内,肝细胞出现损伤和坏死时,肝脏中的ALT和AST含量就会升高。同时,因为ALT和AST含量升高的程度与肝细胞受损的程度呈正相关,所以ALT和AST含量是最常用的肝功能检测指标。ALT和AST可以准确的检测严重的肝疾病(肝硬化、肝纤维化、肝癌),严重肝损伤时AST/ALT会大于1,通过AST和ALT的比值可以更好的评价肝损伤<sup>[8]</sup>。LDH作为糖酵解酶,也可以体现肝脏受损的程度,肝脏出现损伤时,LDH在血清中的含量也明显升高<sup>[7]</sup>。本研究发现虫茶黄酮可以降低肝损伤小鼠血清中的AST、ALT、AST/ALT和LDH水平,100mg/kg的虫茶黄酮效果略优于药物水飞蓟。通过结果可以看到虫茶黄酮可以减轻小鼠的肝细胞损伤程度,证明虫茶黄酮有良好的肝损伤预防效果。

### 2.3 虫茶黄酮对CCl<sub>4</sub>诱发肝损伤小鼠血清和组织中MDA、GSH和TG含量的影响

由表2可以看出虫茶黄酮灌胃小鼠血清和组织中的MDA和TG含量较肝损伤对照组显著降低( $p < 0.05$ ),且100mg/kg浓度灌胃小鼠的水平低于

50mg/kg浓度灌胃小鼠,略高于正常组小鼠。虫茶黄酮的处理肝组织中的GSH含量较对照组显著上升( $p < 0.05$ )。CCl<sub>4</sub>作用于肝脏后产生的·CCl<sub>3</sub>可引起肝细胞膜发生脂质过氧化,导致肝损伤。MDA在血清和组织中的含量可以表示脂质氧化的程度,用以判断肝脏受CCl<sub>4</sub>损害的程度<sup>[9]</sup>。GSH是重要的抗氧化剂,能过通过与体内有害的毒物的结合将它们排出体外,GSH通过与肝脏中CCl<sub>4</sub>产生的有害物质结合,将有害物质带出体外,减轻肝损伤。TG升高代表脂肪酸含量高,脂肪酸含量高与肝病有一定的联系<sup>[10]</sup>。有研究表明CCl<sub>4</sub>引发的肝损伤可引发体内MDA和TG含量升高,GSH含量下降<sup>[9]</sup>。虫茶黄酮可以降低小鼠体内MDA、TG含量和增高GSH含量,通过对这些指标的条件作用,虫茶黄酮可能具有抑制肝脏受CCl<sub>4</sub>损害造成的肝脏脂质过氧化和加速排除体内由于肝损伤产生毒素的效果,从而起到了肝保护效果。

### 2.4 虫茶黄酮对CCl<sub>4</sub>诱发肝损伤小鼠血清中炎症细胞因子水平的影响

由表3可知,虫茶黄酮可以显著降低肝损伤小鼠血清中的IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 水平,100mg/kg浓度灌胃下小鼠的炎症细胞因子水平比50mg/kg浓度虫茶黄酮的作用更为强烈,可以更明显的降低这些炎症细胞因子水平。肝脏被损伤后经常会出现炎症,通过检测炎症细胞因子的水平可以衡量肝损伤的程度。这些细胞因子在内脏发生损伤的过程中有十分重要的作用,IL-6和TNF- $\alpha$ 等细胞因子作为重要的炎症介质参与机体的炎症反应,正常生理状态下,血液中的TNF- $\alpha$ 和IL-6水平较低,但在病理状态下,TNF- $\alpha$ 和IL-6含量升高以及引起的其他炎症因子大量释放可导致炎症加剧,这些反应都可以引起肝细胞损伤<sup>[7]</sup>。IL-6还能使INF- $\gamma$ 增

表1 CCl<sub>4</sub>诱导肝损伤小鼠的血清AST、ALT和LDH水平

Table 1 Serum levels of AST,ALT and LDH in mice following CCl<sub>4</sub> induced liver injury

组别	AST(IU/L)	ALT(IU/L)	AST/ALT	LDH(IU/L)
正常组	217.6 ± 22.3 <sup>d</sup>	289.3 ± 26.3 <sup>d</sup>	0.75 <sup>d</sup>	1203.6 ± 171.5 <sup>e</sup>
对照组	2597.3 ± 89.6 <sup>a</sup>	1218.3 ± 84.2 <sup>a</sup>	2.13 <sup>a</sup>	5984.1 ± 208.3 <sup>a</sup>
虫茶黄酮 50mg/kg	1108.7 ± 67.8 <sup>b</sup>	841.0 ± 70.8 <sup>b</sup>	1.32 <sup>b</sup>	4201.3 ± 121.6 <sup>b</sup>
虫茶黄酮 100mg/kg	439.6 ± 29.2 <sup>c</sup>	407.6 ± 40.8 <sup>c</sup>	1.10 <sup>c</sup>	2112.9 ± 97.6 <sup>d</sup>
水飞蓟(100mg/kg)	479.3 ± 43.0 <sup>c</sup>	412.3 ± 43.9 <sup>c</sup>	1.16 <sup>c</sup>	2457.3 ± 108.7 <sup>c</sup>

注:“<sup>a-c</sup>”不同字母表示各组间差异显著( $p < 0.05$ ),相同字母表示各组间差异不显著( $p > 0.05$ ),表2~表3同。

表2 CCl<sub>4</sub>诱导肝损伤小鼠的血清和肝组织MDA、GSH和TG水平

Table 2 Serum levels and hepatic tissues of MDA,GSH and TG in mice following CCl<sub>4</sub> induced liver injury

组别	血清			肝组织		
	MDA (nmol/mL)	GSH (mg/L)	TG (mmol/L)	MDA (nmol/mgprot)	GSH (mg/gprot)	TG (mmol/gprot)
正常组	4.71 ± 0.56 <sup>e</sup>	307.20 ± 21.22 <sup>a</sup>	0.85 ± 0.12 <sup>d</sup>	2.08 ± 0.21 <sup>d</sup>	24.71 ± 2.15 <sup>a</sup>	0.020 ± 0.001 <sup>d</sup>
对照组	11.25 ± 1.12 <sup>a</sup>	153.61 ± 13.85 <sup>d</sup>	1.28 ± 0.11 <sup>a</sup>	7.89 ± 0.42 <sup>a</sup>	6.26 ± 0.72 <sup>d</sup>	0.043 ± 0.004 <sup>a</sup>
虫茶黄酮 50mg/kg	7.54 ± 0.42 <sup>b</sup>	241.32 ± 18.14 <sup>c</sup>	1.10 ± 0.07 <sup>b</sup>	5.22 ± 0.27 <sup>b</sup>	12.35 ± 0.63 <sup>c</sup>	0.031 ± 0.005 <sup>b</sup>
虫茶黄酮 100mg/kg	5.82 ± 0.38 <sup>d</sup>	270.62 ± 13.29 <sup>b</sup>	0.91 ± 0.06 <sup>c</sup>	2.89 ± 0.21 <sup>c</sup>	18.18 ± 1.08 <sup>b</sup>	0.024 ± 0.003 <sup>c</sup>
水飞蓟(100mg/kg)	6.29 ± 0.32 <sup>c</sup>	265.32 ± 14.08 <sup>b</sup>	0.93 ± 0.07 <sup>c</sup>	3.09 ± 0.25 <sup>c</sup>	18.38 ± 1.22 <sup>b</sup>	0.025 ± 0.003 <sup>c</sup>

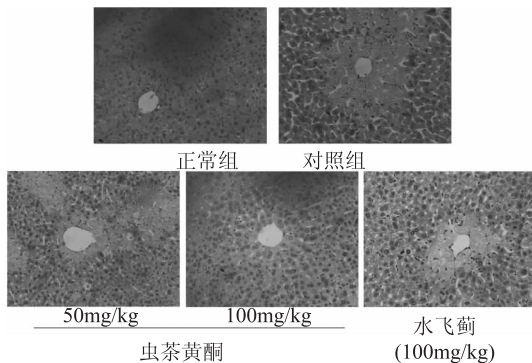
表3 CCl<sub>4</sub> 诱导肝损伤小鼠的细胞因子 IL-6、IL-1β、TNF-α 和 IFN-γ 水平Table 3 Cytokine levels of IL-6, IL-1β, TNF-α and IFN-γ in mice following CCl<sub>4</sub> induced liver injury

组别	IL-6 (pg/mL)	IL-1β (pg/mL)	TNF-α (pg/mL)	IFN-γ (pg/mL)
正常组	43.6 ± 2.7 <sup>e</sup>	432.3 ± 21.3 <sup>d</sup>	31.5 ± 4.3 <sup>d</sup>	22.5 ± 3.5 <sup>e</sup>
对照组	231.2 ± 42.5 <sup>a</sup>	931.6 ± 55.3 <sup>a</sup>	96.1 ± 8.2 <sup>a</sup>	89.6 ± 5.6 <sup>a</sup>
虫茶黄酮 50mg/kg	153.1 ± 28.3 <sup>b</sup>	698.7 ± 28.2 <sup>b</sup>	72.6 ± 6.8 <sup>b</sup>	67.2 ± 4.1 <sup>b</sup>
虫茶黄酮 100mg/kg	98.7 ± 18.1 <sup>d</sup>	487.9 ± 21.6 <sup>c</sup>	50.8 ± 4.2 <sup>c</sup>	33.1 ± 1.8 <sup>d</sup>
水飞蓟 (100mg/kg)	124.3 ± 22.8 <sup>c</sup>	498.3 ± 21.5 <sup>c</sup>	52.6 ± 2.7 <sup>c</sup>	43.5 ± 2.0 <sup>c</sup>

加, INF-γ 具有激活非特异性效应细胞的能力, 能够介导细胞免疫的效应过程<sup>[11]</sup>。有研究表明 CCl<sub>4</sub> 诱导小鼠肝损伤会造成小鼠血清中的 IL-6、IL-1β、TNF-α 和 IFN-γ 水平显著高于正常小鼠<sup>[7]</sup>。可见虫茶黄酮可以通过显著 ( $p < 0.05$ ) 降低肝损伤小鼠体内 IL-6、IL-1β、TNF-α 和 IFN-γ 炎症因子水平, 达到缓解炎症的效果。由于虫茶黄酮对肝损伤诱发的炎症的抑制作用, 肝损伤的程度则明显缓解。由此可以判断虫茶黄酮是具有很好抗炎和预防肝损伤的功物质。

## 2.5 虫茶黄酮对 CCl<sub>4</sub> 诱发肝损伤小鼠肝组织病理状态的影响

由图 2 可知, 正常组小鼠肝组织结构清晰, 肝小叶边界完整, 无中央静脉扩张; 对照组小鼠的肝脏组织出现大部分肝细胞坏死, 肝小叶网状结构被严重破坏, 细胞间结构不完整; 50mg/kg 虫茶黄酮灌胃小鼠肝脏的肝小叶也出现部分破坏, 有一定面积的肝坏死; 100mg/kg 虫茶黄酮则很大程度上缓解了 CCl<sub>4</sub> 对肝脏组织造成的损害, 肝脏受损面积很小, 肝小叶结构也比较完整, 肝小叶中央无坏死; 水飞蓟组小鼠由于药物的作用, 肝组织同 100mg/kg 虫茶黄酮组小鼠一样没有出现大面积的坏死, 组织结构较完整。组织病理切片作为临床上重要的判断病症的方法可以对肝损伤进行准确的评价<sup>[7]</sup>, 本研究中通过病理切片也确定虫茶黄酮可以大大减轻 CCl<sub>4</sub> 诱发肝损伤对肝细胞造成的损害, 起到很好的肝损伤预防作用。

图2 CCl<sub>4</sub> 诱导小鼠肝损伤肝组织病理图像 (×200)Fig.2 Histological images of the liver tissue of mice with CCl<sub>4</sub> induced liver injury (×200)

## 2.6 虫茶黄酮对 CCl<sub>4</sub> 诱发肝损伤小鼠肝组织中 NF-κB 和 IκB-α 的 mRNA 水平的影响

由图 3 可以看出, 对于对照组小鼠的肝组织虫茶黄酮可以下调小鼠肝组织中 NF-κB 的 mRNA 表

达, 并且 100mg/kg 浓度虫茶黄酮比 50mg/kg 虫茶黄酮下调得更多; 同时, 虫茶黄酮也可以上调 IκB-α 表达。100mg/kg 浓度虫茶黄酮处理后, 小鼠肝组织中 NF-κB 和 IκB-α 表达与水飞蓟处理小鼠相似, 接近正常组小鼠。肝损伤发生后会引起肝组织发炎, NF-κB 的活化可引起肝脏炎症, IκB-α 是 NF-κB 的抑制因子, IκB-α 释放减少会引起 NF-κB 水平上升, 两者在组织中的水平呈负相关<sup>[7]</sup>。虫茶黄酮对肝组织中的 NF-κB 和 IκB-α 的 mRNA 表达水平也呈现出这样的结果, 可见虫茶黄酮可以减轻由于肝损伤造成的炎症基因表达的增强, 从而起到肝损伤预防作用。

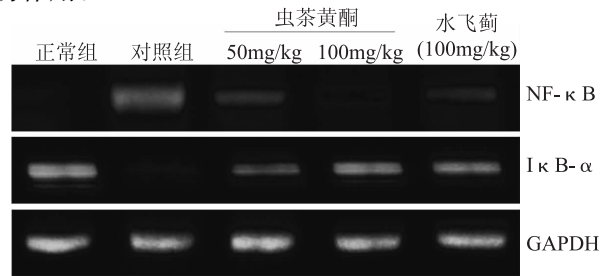


图3 小鼠肝组织 NF-κB 和 IκB-α 的 mRNA 表达水平

Fig.3 mRNA expression levels of NF-κB and IκB-α in liver injury of mice

## 3 结论

本研究采用 CCl<sub>4</sub> 建立动物肝损伤模型对虫茶黄酮进行肝损伤预防作用的实验。实验结果显示虫茶黄酮可以降低肝损伤小鼠血液中 AST、ALT、LDH、MDA 和 TG 含量, 增加 GSH 的含量。同时, 虫茶黄酮也可以降低肝损伤小鼠肝组织中的 MDA 和 TG 含量, 增加 GSH 的含量。虫茶黄酮对血清中炎症细胞因子的含量也起到了调节作用, 相对于对照小鼠, 虫茶黄酮可以降低小鼠的 IL-6、IL-1β、TNF-α 和 IFN-γ 水平。通过肝脏组织的病理学观察发现虫茶黄酮可以减轻 CCl<sub>4</sub> 对肝脏细胞的损害, 效果略优于临床常用肝病治疗药物水飞蓟。对肝组织的 RT-PCR 实验也发现虫茶黄酮能下调肝组织中 NF-κB 的 mRNA 表达水平, 并上调 IκB-α 表达。由这些结果可以看出虫茶黄酮作为虫茶中有效的功能性提取物具有很好的肝保护作用。但是, 虫茶以及虫茶黄酮对肝脏的保护作用机理还有待进一步的研究。

## 参考文献

- [1] 冯霞, 罗敏, 赵欣. 虫茶对癌细胞生长和肿瘤转移抑制作用 (下转第 368 页)

表3 小鼠负重游泳力竭时间  
Table 3 Exhaustive loaded-swimming time in mice

项目	纯空白组	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
力竭时间	22'23" ± 1'12" <sup>aA</sup>	21'44" ± 1'32" <sup>aA</sup>	41'15" ± 57" <sup>nbB</sup>	43'08" ± 44" <sup>nbcC</sup>	44'51" ± 55" <sup>ncD</sup>

注:力竭时间为分,秒。a,A 分别代表 0.01 和 0.05 显著性水平下的多重比较分析差异。

从表 3 中可以看出,纯空白组与空白对照组之间没有显著差异( $p > 0.05$ ),但是这两组与富锗各剂量组之间都存在极显著差异( $p < 0.01$ ),富锗各剂量组之间也存在显著差异( $p < 0.05$ )。实验结果显示富锗金针菇菌丝体能够显著延长小鼠的负重游泳力竭时间,增强小鼠的耐疲劳能力。在实验剂量范围内随着剂量的增加小鼠力竭游泳时间延长。已有研究表明,锗是人体需要的微量元素之一,具有多种重要的生理功能,具有抗氧化、增强免疫力和富集氧以及增强造血系统的功能<sup>[15]</sup>。富锗金针菇菌丝体能够增加小鼠的负重游泳力竭时间,可能是与锗增加了小鼠机体的含氧量和血液循环能力有关,这个问题有待进一步研究。

### 3 结论

富锗金针菇菌丝体在实验剂量范围内可以减少小鼠血乳酸含量、血尿素氮含量、增加负重游泳力竭时间,且随着剂量的增加抗疲劳能力增强。富锗金针菇菌丝体具有较好的抗疲劳能力。

### 参考文献

- [1]王振河,武英霞.金针菇标准化生产[M].郑州:河南科学技术出版社,2012,3:18-25.
- [2]吴希哲,高向东.金针菇提取物的保肝及抗肿瘤作用[J].中国生化药物杂志,2002,23(4):176-178.
- [3]文镜,陈文,王津,等.金针菇抗疲劳的实验研究[J].营养

学报,1993,15(1):79-81.

- [4]孔涛,曲韵笙,朱连勤.微量元素锗的生物学功能[J].微量元素与健康研究,2007,24(1):59-60.
- [5]朱庆义,李连青.芝菌锗研制及其免疫药理作用实验研究[J].实用医技杂志,2003,10(6):567-568.
- [6]刘国湘,胡文祥.有机锗抗癌药物研究进展[J].中国药物化学杂志,1993,3(3):216-221.
- [7]胡明月,李义军,陈芳.有机锗化合物的抗癌活性与机理研究[J].黑龙江医药,2010,23(1):44-47.
- [8]刘冬,姚文兵,张健,等.富锗金针菇多糖对小鼠肝脏的保护作用[J].中国药科大学学报,2006,37(6):565-568.
- [9]陈石良,许正宏,陶文沂,等.灰树花富锗培养研究[J].无锡轻工大学学报,2000,19(3):248-251.
- [10]莫宝庆,马凤楼.富锗金针菇中锌生物利用的研究[J].营养学报,1990,12(4):378-382.
- [11]陈娟,宋海燕,张城,等.富锗金针菇菌丝体不同溶剂提取物对体外抗氧化活性[J].农业工程,2013,3(6):91-94.
- [12]陈广旭,陈宏伟.富锗蛹虫草对运动小鼠抗疲劳能力的影响[J].食品工业科技,2011,32(9):387-388.
- [13]凌关庭.抗疲劳物质,保健食品原料手册[M].北京:化学工业出版社,2002:429-4301.
- [14]钟耀光.缓解体力疲劳的功能性食品[M].北京:化学工业出版社,2004:157-1631.
- [15]王永霞.有机锗的研究概况和进展[J].江西医学检验,2006,24(3):252-254,234.

(上接第 364 页)

- 用的研究[J].现代食品科技,2013,29(8):1898-1901,1905.
- [2]励建荣,周李婷.中国虫茶现状及其研究开发思路[J].农产品加工·学刊,2005,34(3):4-7.
- [3]王在贵,王磊,高丽萍,等.茶叶总黄酮的提取工艺研究[J].饲料工业,2009,30(24):42-44.
- [4]田琳,龚其海.鸭儿芹总黄酮对四氯化碳致急性肝损伤小鼠的保护作用[J].遵义医学院学报,2008,31(1):8-10.
- [5]张玲,李俊,王建青,等.野菊花总黄酮对四氯化碳致急性肝损伤小鼠的保护作用[J].安徽医科大学学报,2007,42(8):412-415.
- [6]毛莉娟,刘学文,冉旭.苦丁茶中黄酮的提取工艺[J].食品科技,2002,27(11):18-24.
- [7]Li GJ, Sun P, Wang Q, et al. *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. attenuates  $CCl_4$ -induced hepatic damage in imprinting

- control region mice[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2014, 8(4):1015-1021.
- [8]杨牧祥,田元祥,姚树坤,等.解酒护肝饮对酒精性肝损伤大鼠血清和肝组织 ALT、AST 的影响[J].河北中医,2000,22(10):793-796.
- [9]童英,闫向东,高珊,等.四氯化碳急性肝损伤敏感指标的研究[J].中国食品卫生杂志,2000,12(6):10-12.
- [10]段荟,付成效,邹瑾.黄芪对酒精性肝损伤小鼠 MDA、GSH 和 TG 的影响及肝脏保护作用的研究[J].陕西医学杂志,2010,39(3):271-273.
- [11]Zhao X. Hawk tea (*Litsea coreana* Levl. var. *lanuginose*) attenuates  $CCl_4$ -induced hepatic damage in Sprague-Dawley rats [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2013, 5(2):555-560.