

三味干姜散对慢性肝损伤大鼠 Nrf2、Bach1 表达的影响

符崖¹, 熊天琴¹, 泽仁达瓦², 康萨·索朗其美², 桑传兰¹, 赵玉民¹, 廖嘉仪¹, 黄兆胜¹(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 西藏藏医学院, 西藏 拉萨 850000)

摘要: **目的** 研究三味干姜散对慢性肝损伤大鼠核因子 NF-E2 相关因子(Nrf2)、BTB-CNC 同源体 1(Bach1)表达的影响, 初步探讨三味干姜散调节机体氧化应激抗肝损伤的作用机制。**方法** 以四氯化碳(CCl₄)诱导慢性肝损伤大鼠模型, 灌胃给予三味干姜散(660 mg·kg⁻¹)6 周, 测定大鼠肝脏、脾脏和胸腺指数; 苏木精-伊红(HE)染色法观察肝脏病理变化; 检测血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST), 肝组织匀浆中丙二醛(MDA)含量和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性; Western-Blot 法测检 Nrf2、Bach1、细胞核内与胞浆蛋白、血红素氧合酶 1(HO-1)总蛋白; 实时 RT-PCR 法检测 Nrf2、Bach1 和 HO-1 mRNA 水平。**结果** 三味干姜散能改善 CCl₄所致肝损伤的病理表现, 降低血清 ALT、AST 水平和肝组织匀浆 MDA 水平, 提升 GSH-Px 活性 ($P < 0.01, P < 0.05$); 提高 Nrf2 核转位率与核 Nrf2/Bach1 比值, 提高 Nrf2 的蛋白及 mRNA 的表达, 降低 Bach1 蛋白及 mRNA 的表达, 并使 HO-1 mRNA 及总蛋白水平提高 ($P < 0.01$)。**结论** 三味干姜散可通过改变 Nrf2 核转位率与核 Nrf2/Bach1 比值调控 Nrf2 与 Bach1 在肝细胞中的表达, 促进机体氧化应激的调节与抗肝损伤。

关键词: 三味干姜散; 慢性肝损伤; 核因子 NF-E2 相关因子; BTB-CNC 同源体 1

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)05-0527-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.05.002

Effects of *Sanwei Ganjiang* Powder on Expression of Nrf2/Bach1 Factors in Rats with Chronic Liver Injury

FU Ya¹, XIONG Tianqin¹, ZE Rendawa², KANGSA·Suolangqimei², SANG Chuanglan¹, ZHAO Yumin¹, LIAO Jiayi¹, HUANG Zhaosheng¹ (1. School of Chinese Herbal Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Traditional Tibet Medical College, Lhasa 850000 Tibet, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of *Sanwei Ganjiang* Powder on the expression of Nrf2/Bach1 factors in rats with chronic liver injury, and to explore the mechanism of *Sanwei Ganjiang* Powder in regulating oxidative stress for anti-hepatic injury. **Methods** The rat model with chronic liver injury was induced by carbon tetrachloride(CCl₄) and given *Sanwei Ganjiang* Powder. Liver, spleen and thymus gland indices of rats were measured. Hepatic pathology was observed after hematoxylin-eosin staining (HE staining). Serum levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), malondialdehyde (MDA) content in hepatic homogenate and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity were measured. Nrf2, Bach1, intranuclear and intracytoplasm protein, and heme oxygenase 1 (HO-1) protein were measured by Western blotting method. Nrf2, Bach1 and HO-1 mRNA expression levels were measured by RT-PCR. **Results** After treatment with *Sanwei Ganjiang* Powder, CCl₄-induced liver injury was improved. The serum ALT and AST levels and MDA content were reduced, and GSH-Px activity was increased ($P < 0.01$). Furthermore, nuclear translocation rate of Nrf2 and Nrf2/Bach1 ratio were increased, proteins and mRNA levels of Nrf2 and HO-1 were increased, but roteins and mRNA levels of Bach1 were reduced ($P < 0.01$). **Conclusion** By increasing nuclear translocation rate of Nrf2 and Nrf2/Bach1 ratio, *Sanwei Ganjiang* Powder has an effect on regulating the expression of Nrf2 and Bach1 proteins in the liver cells and on improving oxidative stress and counteracting hepatic fibrosis.

Keywords: *Sanwei Ganjiang* Powder; Chronic liver injury; Nrf2; Bach1

收稿日期: 2014-01-22

作者简介: 符崖, 男, 博士研究生, 副研究员, 研究方向: 保肝中药研究。Email: shinerfy@sina.com。通讯作者: 熊天琴, 教授, 研究方向: 中药药效物质基础及作用机制。Email: xiongtq020@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81202997); 广东省科技计划项目(2011B031700075); 广东省自然科学基金(S2011010003925)。

氧化应激在肝损伤的发生发展中起着重要作用, 机体氧化 / 抗氧化失衡是肝脏炎症及纤维化的重要因素之一。核因子 NF-E2 相关因子 (NF-E2-related factor 2, Nrf2)、BTB-CNC 同源体 1 (BTB and CNC homology 1, Bach1) 在机体氧化 / 抗氧化失衡的调节中起着重要的作用, Nrf2 通过调节肝脏抗氧化酶基因的表达增加肝脏抵抗氧化应激的能力, 而 Bach1 则与 Nrf2 竞争抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 下调抗氧化酶基因的表达^[1-3]。三味干姜散是藏药成方, 源于《医学四续》^[4], 又名甲嘎松汤, 由干姜、豆蔻、肉豆蔻组成, 气芳香, 味苦、辛, 性温。该方用于小儿肝炎、寒性肝炎、肝肿大等治疗, 被收录于《卫生部药品标准·藏药》^[5]。课题组已完成三味干姜散的 HPLC 指纹图谱研究^[6], 急性、慢性肝损伤保护作用研究^[7]。本研究采用四氯化碳 (CCl₄) 诱导的大鼠肝损伤, 观察三味干姜散对肝损伤大鼠 Nrf2、Bach1 表达的影响, 初步探讨三味干姜散调节机体氧化应激抗肝损伤的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 雄性 SD 大鼠, SPF 级, 体质量 180~220 g, 购自广州中医药大学实验动物中心, 生产许可证号: SCXK(粤)2008-0020。

1.2 药材及试剂 干姜、豆蔻、肉豆蔻饮片购于广州中医药大学大学城校区采芝林大药房, 经广州中医药大学祝晨蓀研究员鉴定均为正品。分别将干姜、肉豆蔻、豆蔻粉碎, 过 100 目筛, 按干姜: 肉豆蔻: 豆蔻 = 6: 4: 5 的质量比混匀, 加水煮沸, 冷却, 配制成 0.066 g·mL⁻¹, 4 °C 保存备用^[6]。姜黄素, 美国 Sigma 公司, 用 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液溶解, 4 °C 保存备用。CCl₄, 广州光华化学厂有限公司, 批号: 20041030。谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 检测试剂盒, 南京建成生物技术有限公司, 批号: 20130723。引物 Nrf2、Bach1、血红素氧合酶 1 (HO-1) 及内参基因 Beta-actin (ACTB) 由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。兔抗 Nrf2、Bach1、HO-1 多克隆抗体, 美国 Santa Cruz 公司, 批号分别为: sc-722、sc-14700、sc-10789。

1.3 仪器 1510 型酶标仪, 芬兰 Thermo Fisher scientific OY 公司; Autostainer XL 染色机, 德国徕卡仪器公司; PTC240 PCR 仪、PAC200 电泳仪, 美国

BIO-RAD 公司; Alpha 个人型凝胶成像系统, 美国 Protein Simple 公司; ABI7500 定量荧光 PCR 仪, 美国 ABI 公司; BIO-RAD 核酸蛋白分析仪, 美国 BIO-RAD 公司。

1.4 模型复制及给药方法 雄性 SD 大鼠随机分正常对照组、模型组、姜黄素组、三味干姜散组, 每组 12 只。模型组和给药组皮下注射 40% CCl₄ 花生油溶液, 首次 5 mL·kg⁻¹, 然后 3 mL·kg⁻¹; 正常对照组皮下注射等体积的花生油, 前 3 周每周 2 次, 后 6 周每周 1 次, 共 9 周。模型复制 3 周后, 姜黄素组按 200 mg·kg⁻¹ 剂量, 三味干姜散组按 660 mg·kg⁻¹ 剂量灌胃给药, 每天 1 次, 共 6 周。模型组、正常对照组灌胃等体积的蒸馏水。

1.5 标本采集 末次给药前禁食不禁水 12 h, 末次给药后 2 h, 以 10% 的水合氯醛 1 mg·kg⁻¹ 腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血, 血液室温静置 2 h 后, 3500 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液检测肝功能 (ALT 和 AST 含量)。将肝脏、脾脏、胸腺完整分离, 测量脏器质量及计算脏器指数。取肝脏左叶相同部位厚约 4 mm 的一小块肝脏组织, 10% 中性甲醛固定, 用于病理切片检查。取肝左叶用生理盐水制成 10% 的肝匀浆, 4 °C、3500 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液检测肝组织中 GSH-Px 活性及 MDA 含量。再取约黄豆粒大小的肝脏组织, 无菌条件放液氮罐中速冻, -80 °C 保存, 进行实时 RT-PCR 和 Western-blot 检测。

1.6 检测指标及方法

1.6.1 脏器指数 取材后用预冷的生理盐水洗净, 滤纸吸干后立即称质量, 测定大鼠肝脏、脾脏和胸腺指数, 脏器指数 = 脏器质量 / 末次体质量 × 100%。

1.6.2 肝脏组织病理学观察 石蜡切片, 苏木精 - 伊红 (HE) 染色, 在光镜下观察大鼠肝细胞形态。

1.6.3 血清肝功能检测 按试剂盒说明操作, 赖氏法检测血清 ALT 及 AST 含量。

1.6.4 抗氧化指标检测 按试剂盒说明操作, 分光光度法检测检测肝匀浆中抗氧化指标 MDA、GSH-Px。

1.6.5 脏组织中细胞核内外 Nrf2 与 Bach1 蛋白、HO-1 总蛋白表达检测 采用 Western-Blot 法^[8], Quantity One 图像处理软件分析目的条带的平均灰度值, 目的蛋白相对灰度值 = 目的蛋白条带的灰度值 / 内参蛋白条带的灰度值; 计算 Nrf2 核转位率与 Nrf2/Bach1 比值, 核转位率 = 细胞核相对灰度值 / (细

胞浆相对灰度值 + 细胞核相对灰度值) × 100 % ,
Nrf2/Bach1 比值 = Nrf2 的相对灰度值 / Bach1 的相对
灰度值。

**1.6.6 肝组织中 Nrf2、Bach1 和 HO-1 mRNA 的表达
检测** 采用实时 RT-PCR 法检测^[9], 2^{-ΔΔCT} 法分析基
因相对表达量。计算 Nrf2/Bach1 比值, Nrf2/Bach1 比
值 = Nrf2 的 2^{-ΔΔCT} 值 / Bach1 的 2^{-ΔΔCT} 值。

1.7 统计学处理方法 所有计量资料以均数 ± 标准差
($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用 SPSS17.0 软件进行统计分析, 多组
间比较采用单因素方差分析, 两两比较用 LSD 检验,
 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对大鼠脏器指数的影响 与正常对照组比较, 模
型组大鼠肝脏和脾脏指数均显著升高($P < 0.01$), 表
明肝损伤模型复制成功; 与模型组比较, 姜黄素组、
三味干姜散组大鼠肝脏和脾脏指数均显著性下降($P <$
 $0.01, P < 0.05$), 但两组对胸腺指数均无明显作用(P

表 1 对大鼠脏器指数的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of viscera index in rats

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肝脏指数 /%	脾脏指数 /%	胸腺指数 /%
正常对照组		1.924 ± 0.034	0.120 ± 0.022	0.050 ± 0.011
模型组		2.897 ± 0.164 [#]	0.210 ± 0.056 [#]	0.052 ± 0.034
姜黄素组	200	2.027 ± 0.153 ^{**}	0.141 ± 0.023 ^{**}	0.050 ± 0.032
三味干姜散组	660	2.426 ± 0.512 [*]	0.142 ± 0.021 ^{**}	0.051 ± 0.025

注: 与正常对照组比较, [#] $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P <$
 0.01 。

> 0.05), 见表 1。

2.2 大鼠肝组织病理学观察 正常对照组大鼠肝小叶
及汇管区结构正常, 肝细胞呈条索状分布, 无肝细
胞坏死, 未见间质扩增, 汇管区无明显纤维组织增
生及炎性细胞浸润。模型组肝小叶结构完全被破坏,
汇管区胶原纤维组织增生十分明显, 伸入肝小叶,
分割肝小叶, 形成大小不一的假小叶。三味干姜散
组和姜黄素组肝小叶结构基本完整清晰, 呈条索状
向四周排布, 在汇管区有少量的脂肪变性坏死和纤
维增生, 见图 1。

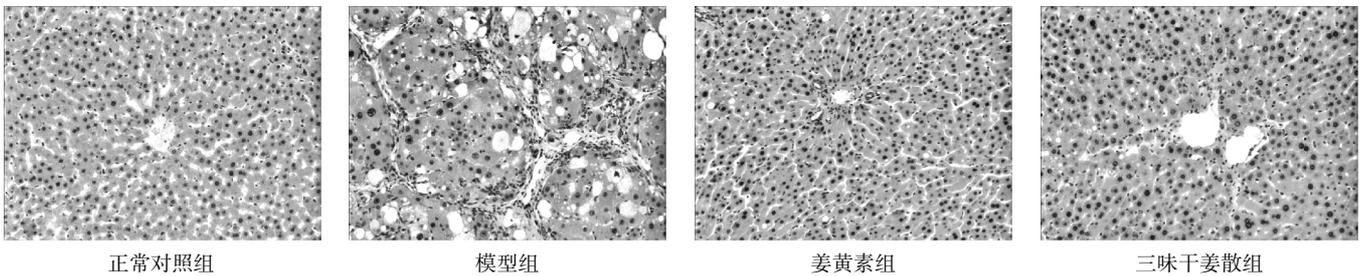


图 1 大鼠肝组织病理学观察结果(HE 染色, ×200 倍)

Figure 1 Pathological observation by HE staining in rat liver tissue

2.3 对大鼠血清 ALT、AST 和肝组织 MDA、GSH-PX 的影响 与正常对照组比较, 模型组 ALT、AST、
MDA 明显升高, GSH-PX 明显降低($P < 0.01$)。与模
型组比较, 姜黄素组和三味干姜散组血清 ALT、AST
明显降低, 肝组织中 MDA 明显降低, GSH-PX 明显
升高, 差异有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$), 表明
三味干姜能改善肝功能和具有抗氧化作用, 表见 2。

**2.4 对大鼠肝脏组织中 Nrf2、Bach1 蛋白和 HO-1
总蛋白表达的影响** 与正常对照组比较, 模型组肝
细胞核、胞浆中 Nrf2、Bach1 和 HO-1 总蛋白均明显
升高 ($P < 0.01$); Nrf2、Bach1 蛋白核转位率升高,
核内 Nrf2 蛋白 /Bach1 蛋白的比值下降($P < 0.01$); 与
模型组比较, 姜黄素组和三味干姜散组 Nrf2 蛋白在
肝细胞核内的表达水平显著升高, 在胞浆中的表达

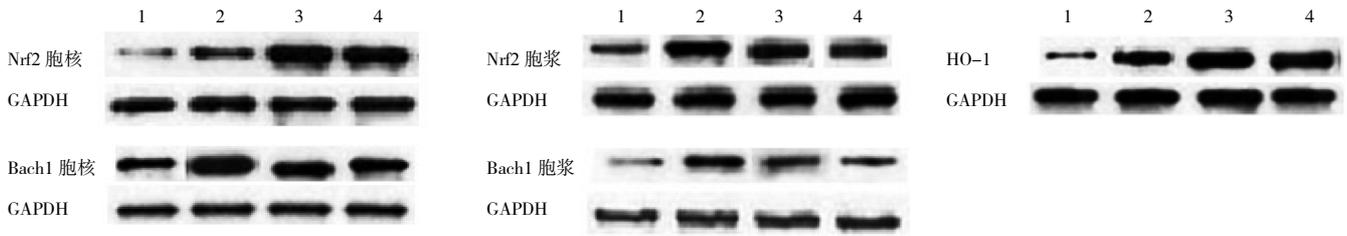
表 2 对大鼠血清 ALT、AST, 肝组织 MDA、GSH-PX 的影
响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect on ALT, AST, MDA and GSH-PX in rat serum
and liver tissue

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	MDA/nmol·mg ⁻¹	GSH-PX/U
正常对照组		27.664 ± 1.142	39.700 ± 2.085	2.943 ± 0.050	646.671 ± 72.245
模型组		123.380 ± 7.914 [#]	84.317 ± 4.394 [#]	7.922 ± 0.325 [#]	390.050 ± 41.248 [#]
姜黄素组	200	29.017 ± 2.056 ^{**}	33.129 ± 2.117 ^{**}	2.561 ± 0.060 ^{**}	550.121 ± 85.226 ^{**}
三味干姜散组	660	35.852 ± 2.541 ^{**}	36.172 ± 3.803 ^{**}	2.504 ± 0.162 [*]	502.217 ± 99.674 [*]

注: 与正常对照组比较, [#] $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P <$
 0.01 。

水平显著降低, Nrf2 蛋白核转位率升高 ($P < 0.01$);
Bach1 蛋白则是无论在肝细胞核内还是胞浆中均显著
降低 ($P < 0.01$), Bach1 蛋白核转位率无明显差异
($P > 0.01$); 核内 Nrf2 蛋白 /Bach1 蛋白的比值和 HO-1



1. 正常对照组; 2. 模型组; 3. 姜黄素组; 4. 三味干姜散组

图2 Nrf2、Bach1 蛋白和 HO-1 总蛋白 Western-Blot 法检测结果

Figure 2 Result of protein determination of Nrf2, Bach1 and HO-1 by Western-Blot

表3 对大鼠肝细胞核、胞浆内 Nrf2 和 Bach1 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Effect on protein changes of Nrf2 and Bach1 gene in rat liver nucleus and cytoplasm

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	胞核蛋白		胞浆蛋白		总蛋白	
		Nrf2	Bach1	Nrf2	Bach1	Nrf2	Bach1
正常对照组		0.51 ± 0.03	0.73 ± 0.02	0.85 ± 0.03	0.41 ± 0.01	1.36 ± 0.05	1.14 ± 0.03
模型组		0.87 ± 0.08 ^{##}	1.71 ± 0.01 ^{##}	1.26 ± 0.02 ^{##}	0.74 ± 0.01 ^{##}	2.13 ± 0.06 ^{##}	2.46 ± 0.01 ^{##}
姜黄素组	200	1.90 ± 0.08 ^{**}	1.26 ± 0.03 ^{**}	0.86 ± 0.01 ^{**}	0.51 ± 0.01 ^{**}	2.76 ± 0.08 ^{**}	1.77 ± 0.04 ^{**}
三味干姜散组	660	1.90 ± 0.10 ^{**}	1.17 ± 0.04 ^{**}	0.86 ± 0.06 ^{**}	0.54 ± 0.03 ^{**}	2.76 ± 0.09 ^{**}	1.71 ± 0.06 ^{**}

注: 与正常对照组比较, ^{##}P<0.01; 与模型组比较, ^{**}P<0.01。

表4 对大鼠肝细胞核转位率、Nrf2/Bach1 及 HO-1 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Effect on nuclear translocation rate, Nrf2/Bach1 and protein changes of HO-1 gene in rat liver tissue

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	Nrf2 核转位率 /%	Bach1 核转位率 /%	核内 Nrf2/Bach1	总 Nrf2/Bach1	HO-1 总蛋白
正常对照组		0.38 ± 0.01	0.64 ± 0.01	0.70 ± 0.04	1.19 ± 0.06	0.57 ± 0.11
模型组		0.41 ± 0.03 ^{##}	0.70 ± 0.01 ^{##}	0.51 ± 0.04 ^{##}	0.87 ± 0.06 ^{##}	0.81 ± 0.10 ^{##}
姜黄素组	200	0.69 ± 0.01 ^{**}	0.71 ± 0.01	1.51 ± 0.09 ^{**}	1.56 ± 0.08 ^{**}	1.73 ± 0.08 ^{**}
三味干姜散组	660	0.69 ± 0.02 ^{**}	0.69 ± 0.01	1.62 ± 0.10 ^{**}	1.62 ± 0.09 ^{**}	1.71 ± 0.09 ^{**}

注: 与正常对照组比较, ^{##}P<0.01; 与模型组比较, ^{**}P<0.01。

总蛋白均显著升高(P<0.01), 显示三味干姜散对肝组织 Nrf2 和 Bach1 蛋白表达有调控作用, 可以提高抗氧化酶 HO-1 总蛋白的表达水平, 见图 2、表 3 和表 4。

2.5 对大鼠肝脏组织 Nrf2、Bach1 和 HO-1 mRNA 表达的影响

与正常对照组比较, 模型组肝组织中 Nrf2、Bach1 mRNA 表达水平明显升高, HO-1 mRNA 的表达水平降低, Nrf2 mRNA /Bach1 mRNA 比值降低(P < 0.01)。与模型组比较, 姜黄素组与三味干姜散组能显著升高肝组织中 Nrf2、HO-1 mRNA 表达水平, 降低 Bach1 mRNA 的表达水平, Nrf2 mRNA /Bach1 mRNA 比值显著升高(P < 0.01), 这与上述蛋白表达的变化一致, 见表 5。

3 讨论

CCl₄ 是最经典和广泛应用的肝毒性物质, 一般

表5 对大鼠肝脏组织中 Nrf2、Bach1、HO-1 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 5 Effect on fold changes of Nrf2, Bach1 and HO-1 gene in rat liver tissue

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	Nrf2	Bach1	Nrf2 /Bach1	HO-1 mRNA
正常对照组		1.02 ± 0.03	1.01 ± 0.03	1.02 ± 0.04	1.01 ± 0.04
模型组		1.65 ± 0.01 ^{##}	2.37 ± 0.02 ^{##}	0.70 ± 0.01 ^{##}	0.63 ± 0.01 ^{##}
姜黄素组	200	2.78 ± 0.01 ^{**}	1.72 ± 0.01 ^{**}	1.61 ± 0.02 ^{**}	2.53 ± 0.02 ^{**}
三味干姜散组	660	2.76 ± 0.04 ^{**}	1.72 ± 0.01 ^{**}	1.61 ± 0.02 ^{**}	2.26 ± 0.01 ^{**}

注: 与正常对照组比较, ^{##}P<0.01; 与模型组比较, ^{**}P<0.01。

认为 CCl₄ 在肝细胞内经微粒体酶活化生成自由基, 启动脂质过氧化, 造成肝损伤^[10]。研究^[11-13]表明, 姜有很强的抗氧化作用, 其挥发油、姜辣素、姜酚等提取物均有抗氧化活性; 白豆蔻是常用的解酒保肝药物, 其水提物、醇提物与挥发油均有抗氧化活性^[14-15]; 肉豆蔻的提取物、精油、木脂素与肉豆蔻

醚有抗氧化活性与保肝作用^[16-18]。本研究表明, 三味干姜散能改善 CCl₄ 致肝损伤大鼠肝组织的病理变化, 降低大鼠的肝脏、脾脏指数, 降低 ALT、AST、MDA 含量, 提高 GSH-Px 的活性。

机体受到氧化应激损伤后, 细胞浆中 Bach1 核移位进入细胞核内, 与 Nrf2 竞争 ARE, Nrf2 出核降解, 核内 Bach1 水平提高, 细胞浆中 Nrf2 水平增加, 抗氧化酶的表达水平下降。给予抗氧化处理时, 细胞浆中 Nrf2 进入细胞核, 与 ARE 结合, 核内 Nrf2 水平提高, Bach1 水平降低, 并引起抗氧化酶的表达上调^[19-20]。本研究表明, 模型组肝细胞核内 Bach1 蛋白、组织匀浆中 Nrf2 蛋白表达显著升高, GSH-Px 活性降低, ALT、AST、MDA 显著升高, 提示在氧化应激过程中 Nrf2 因子核移出, 机体抗氧化酶水平降低。姜黄素组和三味干姜散组大鼠机体的氧化/抗氧化失衡得到了调节, 肝细胞核内 Nrf2 蛋白水平升高, Bach1 总蛋白水平降低, Nrf2/Bach1 蛋白比值升高, Nrf2 核转位率提高, 并引起 Nrf2 的下游抗氧化酶 HO-1 总蛋白表达显著提高, 以及 GSH-Px 活性升高, ALT、AST、MDA 降低。在基因层面, 三味干姜散对 Nrf2、Bach1 mRNA 的影响与其对蛋白的影响相似, 与模型组相比, 能提高肝组织中 Nrf2 mRNA 表达, 降低 Bach1 mRNA 表达, Nrf2 mRNA/Bach1 mRNA 比值升高, 同时显著提高 HO-1 mRNA 表达。

因此, 三味干姜提高了 Nrf2 核转位率与 Nrf2/Bach1 比值, 调节核因子蛋白与 mRNA 水平, 影响 GSH-Px 抗氧化酶活性与下游基因 HO-1 表达, 降低了 ALT、AST、MDA 含量, 从而达到调节氧化应激抗肝损伤的作用。

参考文献:

- [1] Floreczyk U, Loboda A, Stachurska A, et al. Role of Nrf2 transcription factor in cellular response to oxidative stress [J]. *Postepy Biochem*, 2010, 56(2): 147-155.
- [2] Kalra S, Zhang Y, Knatko EV, et al. Oral azathioprine leads to higher incorporation of 6-thioguanine in DNA of skin than liver: The protective role of the Keap1/Nrf2/ARE pathway [J]. *Cancer Prev Res*, 2011, 4(10): 1665-1674.
- [3] Dhakshinamomrthy S, Jain AK, Bloom DA, et al. Bach1 competes with Nrf2 leading to negative regulation of the antioxidant response element (ARE)-mediated NAD (P) H: quinone oxidoreductase 1 gene expression and induction in response to antioxidants [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 16891-16900.
- [4] 宇妥·元丹袞波. 医学四续[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2012: 197.
- [5] 青海省藏医药研究所, 青海省药品检验所. 卫生部药品标准·藏药[S]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996: 257.
- [6] 熊天琴, 赵玉民, 泽仁达瓦, 等. 甲嘎松汤 HPLC 特征指纹图谱[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 22(19): 60-63.
- [7] 熊天琴, 李红侠, 陈元元, 等. 甲嘎松汤对肝损伤的保护作用研究[J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(1): 132-135.
- [8] 奥斯伯. 精编分子生物学实验指南[M]. 第 4 版. 北京: 科学出版社, 2005: 407-416.
- [9] 黄留玉. PCR 最新技术原理、方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 139-157.
- [10] 陈金锋, 高家荣, 姜辉, 等. 肝纤维化动物模型研究进展[J]. *安徽中医学院学报*, 2012, 31(6): 83-86.
- [11] 王林. 姜抗氧化作用及其机制的研究进展[J]. *中药新药与临床药理*, 2007, 1(18): 80-83.
- [12] 耿艳艳, 谢振飞, 周羽, 等. 姜辣素对 ⁶⁰Co γ 射线照射小鼠造血和抗氧化损伤的治疗作用研究[J]. *核农学报*, 2012, 26(3): 523-526.
- [13] Dugasani S, Pichika MR, Nadarajah VD, et al. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingaerol, [8]-gingeral, [10]-gingerol and [6]-shogaol[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 127(2): 515-520.
- [14] 冯雪, 姜子涛, 李荣. 中国、印度产白豆蔻精油清除自由基能力研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(2): 137-139.
- [15] 李文哲, 芦洁, 孙晓宇, 等. 几种中药提取物和药物对乙醇脱氢酶活性影响的研究[J]. *中药材*, 2006, 8(29): 816-818.
- [16] 李荣, 孙健平, 姜子涛. 肉豆蔻精油抗氧化性能及清除自由基能力的研究[J]. *食品研究与开发*, 2009, 11(30): 75-80.
- [17] 王洪侠. 肉豆蔻药理作用的研究进展[J]. *中国现代药物应用*, 2011, 1(5): 222-223.
- [18] 昌友权, 杨世杰, 李红, 等. 肉豆蔻提取物对 GaIN 致大鼠急性肝损伤的保护作用[J]. *中国药理学通报*, 2004, 20(1): 118-119.
- [19] Sykiotis GP, Bohmann D. Stress-activated cap'n'collar transcription factors in aging and human disease[J]. *Sci Signal*, 2010, 3 (112): 3112-3113.
- [20] 王豫萍, 程明亮. Nrf2-Keap1 抗氧化系统与肝脏疾病[J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(18): 1907-1911.

(编辑: 梁进权)