

# 罗格列酮减轻细菌脂多糖诱发急性肝损伤及其机制研究

黄家惠<sup>1</sup>, 王俊先<sup>1</sup>, 何薇<sup>1</sup>, 徐德祥<sup>2</sup>

**摘要** 目的 研究罗格列酮(RSG)预处理对细菌脂多糖(LPS)暴露致小鼠急性肝损伤(ALI)的影响,并探讨其可能的保护机制。方法 42只雄性SPF级CD-1小鼠随机均分为6组:对照组(Control组)、保护剂组(RSG组)、LPS暴露6h组(LPS 6h组)、LPS暴露12h组(LPS 12h组)、RSG加LPS暴露6h组(RSG+LPS 6h组)和RSG加LPS暴露12h组(RSG+LPS 12h组)。RSG组和RSG+LPS组小鼠在LPS单次暴露前连续5d灌胃补充RSG(10 mg/kg),LPS组和RSG+LPS组小鼠单次腹腔注射LPS(2 mg/kg),分别在LPS注射后6、12h剖杀小鼠,留取肝脏组织。取部分肝脏做HE染色,观察肝脏炎症细胞浸润和病理损伤情况;赖氏比色法检测小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)水平;ELISA法检测小鼠血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和巨噬细胞炎性蛋白2(MIP-2)水平;Western blot检测肝脏激活蛋白-1(AP-1)信号、NADPH氧化酶(NOX)以及抗氧化酶蛋白表达。结果 RSG预处理减轻LPS暴露所致小鼠肝脏炎症细胞浸润和ALI;抑制LPS暴露上调小鼠血清ALT和AST水平;阻断LPS暴露诱导肝脏c-fos和c-jun蛋白磷酸化;降低LPS暴露上调肝脏NOX-4蛋白表达;减弱LPS暴露上调血红素加氧酶(HO)-1蛋白表达。结论 RSG预处理可能部分通过抑制肝脏AP-1信号和NOX、调控抗氧化酶减轻LPS暴露所致小鼠ALI。

**关键词** 罗格列酮;细菌脂多糖;急性肝损伤;AP-1信号;NADPH氧化酶4;血红素加氧酶

中图分类号 R 574.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)06-0920-06  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.06.019

外源化合物的暴露常会导致肝细胞死亡和肝脏功能障碍<sup>[1]</sup>。细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)急性暴露诱导的炎症性肝损伤(acute liver injury, ALI)小鼠模型,能够很好地模拟人类肝炎病毒入侵

的病理生理过程<sup>[2]</sup>。ALI的发病机制非常复杂,目前并未完全阐明,大量研究<sup>[3]</sup>表明炎症和氧化应激参与了肝脏的病理性损伤过程。

过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR $\gamma$ )是一类核受体,是配体依赖性的核转录因子<sup>[4]</sup>。罗格列酮(rosiglitazone, RSG)是噻唑烷二酮类胰岛素增敏剂,是临床常用的2型糖尿病患者降糖药物。研究<sup>[5]</sup>发现,补充RSG可以激活小鼠肝脏PPAR $\gamma$ 核受体,通过抗感染和抗氧化作用拮抗对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)引起的药物性肝损伤,然而补充RSG是否可以减轻LPS暴露引起的ALI目前还不清楚。因此该研究旨在探讨补充RSG对LPS暴露诱发小鼠ALI的保护作用,并从抗感染和抗氧化作用部分探讨其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 42只SPF级CD-1系成年雄鼠,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,8周龄,体质量28~30g,实验动物许可证号:SCXK(京)2016-0006。实验前适应性喂养1周,自由饮食饮水,昼夜均衡。

**1.1.2 药物与试剂** RSG购于成都恒瑞制药有限公司(国药准字H20030569);LPS购于美国Sigma公司(货号067M4035V);谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒购于南京建成生物工程研究所;肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor alaph, TNF- $\alpha$ )(货号:CSB-E04741m)、巨噬细胞炎性蛋白-2(macrophage inflammatory protein-2, MIP2)ELISA试剂盒(货号:CSB-E04666m)购于武汉华美生物有限公司;p-c-fos(货号:D82C12)、p-c-jun(货号:D47G9)、NADPH氧化酶(NADPH-oxidase, NOX)-4(货号:D21F6)、血红素加氧酶(haem oxygenase, HO)-1(货号:E9H3A)和HO-2(货号:D9J9U)一抗均购于美国Cell Signaling Technology公司;NOX-2(货号:ab80508)和 $\beta$ -actin(货号:ab179467)一抗购

2019-09-25 接收

基金项目:安徽省卫生计生委科研项目(编号:2018SEYL007);安徽省高等学校自然科学研究一般项目(编号:12925KJ2018B14)

作者单位:<sup>1</sup>安徽省第二人民医院消化内科,合肥 230041

<sup>2</sup>安徽医科大学卫生毒理学,合肥 230032

作者简介:黄家惠,女,医师;

王俊先,男,副主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: ahwjx168@sina.com

于美国 Abcam 公司。

**1.1.3 仪器** Senergy2 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司); Fine Do X6 全自动化学发光分析系统(上海天能科技有限公司); Universal32R 低温高速离心机(德国 Hettich 科学仪器公司); UV-4200 型紫外可见分光光度计(上海翊艺有限公司); CM1950 组织冰冻切片机(德国莱卡公司); XMTD-8222 恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); 光学显微镜和 DP71 成像系统(日本 Olympus 公司)。

**1.2 动物模型的制备** 实验动物随机均分为 6 组: 对照组(Control 组)、保护剂组(RSG 组)、LPS 暴露 6 h 组(LPS 6 h 组)、LPS 暴露 12 h 组(LPS 12 h 组)、RSG 加 LPS 暴露 6 h 组(RSG + LPS 6 h 组)和 RSG 加 LPS 暴露 12 h 组(RSG + LPS 12 h 组)。除 Control 组和 LPS 组外,所有小鼠在 LPS 暴露前连续 5 d 给予 RSG (10 mg/kg) 灌胃处理, LPS 组和 RSG + LPS 组小鼠给予 LPS (2 mg/kg) 单次腹腔注射构建 ALI 小鼠模型,其余组给予等体积的生理盐水,分别在 LPS 注射后 6、12 h 剖杀小鼠,留取小鼠血清和肝脏组织。

**1.3 ALT、AST 水平测定** 通过赖氏比色法测定小鼠血清 ALT、AST 水平,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

**1.4 HE 染色观察肝脏组织病理学改变** 取实验动物部分肝脏组织,置于 4% 多聚甲醛溶液中,固定 24 h 后经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片、HE 染色、中性树胶封片,置于光学显微镜下观察小鼠肝脏病理学改变并摄片,统计小鼠肝脏炎症性细胞的数量。

**1.5 ELISA 检测** 室温平衡试剂盒,根据标准品浓度建立标准曲线。用样品稀释液稀释待测样品,在酶标板中加入标准品和待测样品,并留取空白孔,加入一抗工作液 50  $\mu$ l,封口膜盖住,37  $^{\circ}$ C 水浴锅中孵育 3.5 h,加入 300  $\mu$ l 洗涤液,重复洗板 5 次。加入酶标抗体工作液,继续 37  $^{\circ}$ C 水浴锅中孵育 2 h。重复洗板 5 次,加入底物工作液 100  $\mu$ l 反应 30 min。然后加入反应终止液,振荡混匀,在 450 nm 波长处用酶标仪检测吸光度值,5 min 内完成检测,并根据标准曲线计算 TNF- $\alpha$  和 MIP-2 的浓度。

**1.6 肝脏总蛋白的提取与 Western blot** 称取 40 mg 肝脏组织到洁净玻璃匀浆器中,加入 0.5 ml 含 1% PMSF 的 RIPA 裂解液,冰上匀浆 45 次,匀浆完成后倒入 1.5 ml EP 管中,冰上静置 10 min,4  $^{\circ}$ C 离心机中 9 160 r/min 离心 15 min,吸取 250  $\mu$ l 上清

液,用 BCA 法检测肝脏蛋白浓度,加入上样缓冲液将所有样品蛋白定至同一浓度,煮沸变性,分装保存。固定玻璃卡槽,灌入所需浓度分离胶和浓缩胶,加入相同体积的蛋白样品,开始电泳,然后转膜,转膜结束,按照所需蛋白分子量大小剪去多余的膜,牛奶封闭,加入  $\beta$ -actin (1 : 10 000)、p-c-fos (1 : 2 000)、p-c-jun (1 : 2 000)、NOX-4 (1 : 2 000)、NOX-2 (1 : 2 000)、HO-1 (1 : 2 000) 和 HO-2 (1 : 2 000) 一抗,孵育结束继续孵育不同二抗 (1 : 80 000,羊抗兔和羊抗鼠),加入 ECL 发光液分别检测上述蛋白水平。

**1.7 统计学处理** 实验数据使用 SPSS 17.0 统计软件分析,所有定量数据符合正太分布的都以表示,每组实验的样本量都标注在图注中,两组数据之间的差异性用 *t* 检验分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 RSG 减轻 LPS 诱发小鼠 ALI** LPS 暴露 6 h 和 12 h 后,小鼠肝脏重量无明显变化,小鼠肝脏出现炎症细胞浸润,肝脏炎症细胞渗出增多(图 1); LPS 注射后 12 h,小鼠血清 ALT 和 AST 水平升高( $P < 0.01$   $t = 3.819$ ;  $P < 0.01$   $t = 5.474$ ) (图 2)。而 RSG 预处理可减轻 LPS 暴露诱发的小鼠 ALI, RSG + LPS 组小鼠肝脏炎症细胞渗出数量减少(图 1); 此外, RSG + LPS 组小鼠血清中 ALT 和 AST 水平降低( $P < 0.01$   $t = 2.770$ ;  $P < 0.01$   $t = 4.046$ ) (图 2)。

**2.2 RSG 降低 LPS 暴露诱发小鼠血清炎症因子的升高** LPS 注射后 6 h 上调小鼠血清中促炎细胞因子 TNF- $\alpha$  和趋化因子 MIP-2 的水平( $P < 0.01$   $t = -102.087$ ;  $P < 0.01$   $t = -31.593$ ) (图 3); 而 RSG 预处理可降低 LPS 暴露诱发小鼠血清中 TNF- $\alpha$  和 MIP-2 的升高( $P < 0.01$   $t = -6.818$ ;  $P < 0.01$   $t = -30.345$ ) (图 3)。

**2.3 RSG 抑制 LPS 暴露激活小鼠肝脏 AP-1 信号**

LPS 注射后 6 h 和 12 h 增加了小鼠肝脏 c-fos 蛋白磷酸化水平( $P < 0.01$   $t = -19.878$ ;  $P < 0.01$   $t = -4.872$ ) (图 4A、B), RSG 预处理抑制了 LPS 所致的 c-fos 蛋白磷酸化水平( $P < 0.01$   $t = -15.456$ ;  $P < 0.05$   $t = 2.387$ ) (图 4A、B)。同时也检测了小鼠肝脏 c-jun 的蛋白磷酸化水平,显示 LPS 暴露后 6 h 和 12 h, c-Jun 的蛋白磷酸化水平增强( $P < 0.01$   $t = -14.972$ ;  $P < 0.01$   $t = -18.687$ ) (图 4A、C), RSG 预处理对 LPS 注射 6 h 后诱导的 c-jun 的蛋白

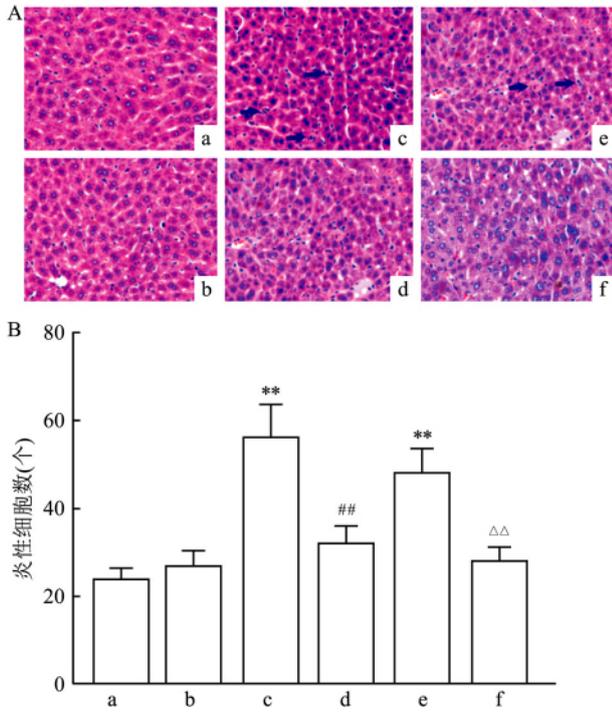


图1 小鼠肝脏组织病理变化和炎性细胞数 HE × 400

A: 小鼠肝脏 HE 染色; B: 小鼠肝脏炎性细胞数; a: Control 组; b: RSG 组; c: LPS 6 h 组; d: RSG + LPS 6 h 组; e: LPS 12 h 组; f: RSG + LPS 12 h 组; 与 Control 组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与 LPS 6 h 组比较: ##  $P < 0.01$ ; 与 LPS 12 h 组比较:  $\Delta\Delta P < 0.01$

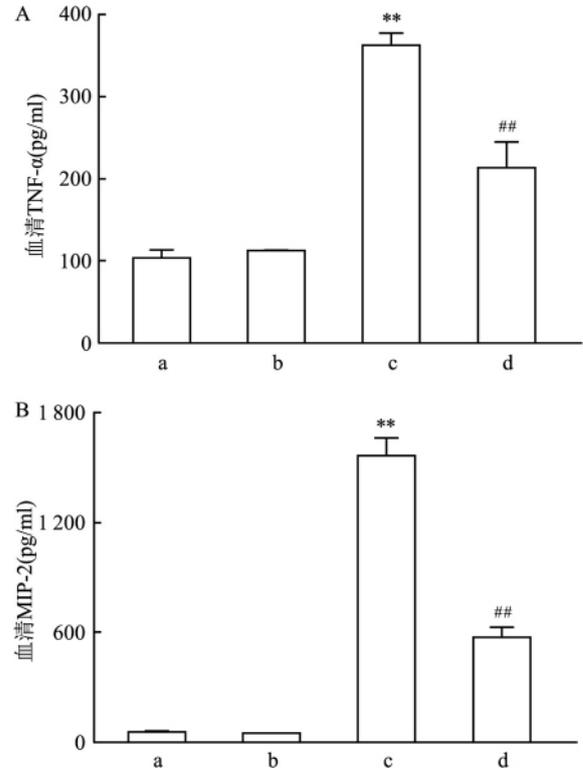


图3 小鼠血清 TNF-α 和 MIP-2 的水平

A: 小鼠血清 TNF-α 水平; B: 小鼠血清 MIP-2 水平; a: Control 组; b: RSG 组; c: LPS 6 h 组; d: RSG + LPS 6 h 组; 与 Control 组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与 LPS 6 h 组比较: ##  $P < 0.01$

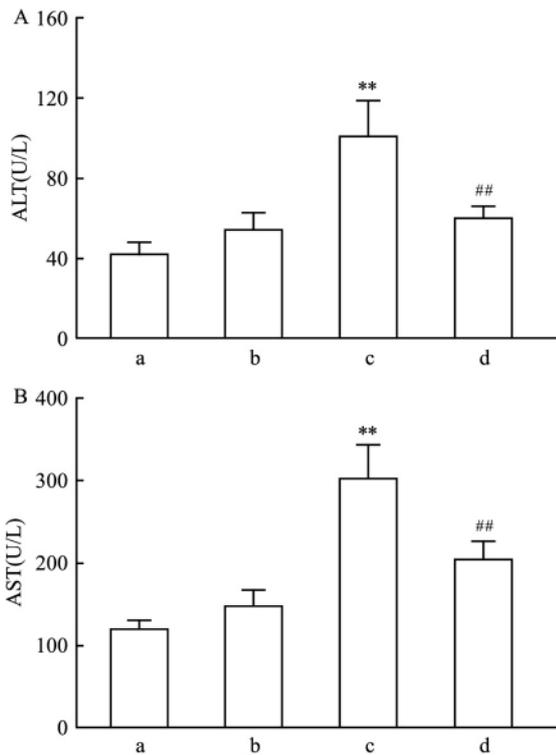


图2 小鼠血清 ALT 和 AST 的水平

A: 小鼠血清 ALT 水平; B: 小鼠血清 AST 水平; a: Control 组; b: RSG 组; c: LPS 6 h 组; d: RSG + LPS 6 h 组; 与 Control 组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与 LPS 6 h 组比较: ##  $P < 0.01$

磷酸化水平无明显影响,但在 12 h 后 c-jun 的蛋白磷酸化水平被抑制 ( $P > 0.05$ ,  $t = 0.516$ ;  $P < 0.05$ ,  $t = 2.565$ ) (图 4A、C)。

### 2.4 RSG 抑制 LPS 暴露上调小鼠肝脏 NOX

NOX 的 2 个亚型,NOX-4 和 NOX-2 蛋白表达在 LPS 注射后 6 h 无明显改变,在 12 h 后分别升高了 4.52 倍 ( $P < 0.01$ ,  $t = -29.299$ ) (图 5A、B) 和 2.04 倍 ( $P < 0.01$ ,  $t = -12.26$ ) (图 5A、C); RSG 预处理降低了 LPS 所致小鼠肝脏 NOX-4 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ ,  $t = -12.046$ ) (图 5A、B),然而 RSG 预处理对 LPS 诱导的肝脏 NOX-2 蛋白表达升高无明显影响 ( $P > 0.05$ ,  $t = -0.128$ ) (图 5A、C)。

### 2.5 RSG 抑制 LPS 暴露上调小鼠肝脏抗氧化酶 HO-1

小鼠腹腔注射 LPS 6 h 和 12 h 后,小鼠肝脏抗氧化酶 HO-1 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ ,  $t = -6.563$ ;  $P < 0.01$ ,  $t = -7.985$ ) (图 6A、B),RSG 预处理可以减轻 LPS 暴露引起的 HO-1 蛋白表达的升高 ( $P < 0.01$ ,  $t = -14.972$ ;  $P < 0.05$ ,  $t = 3.143$ ) (图 6A、B)。此外,检测小鼠肝脏 HO-2 蛋白表达显示,LPS 暴露对小鼠肝脏 HO-2 蛋白表达无影响(图 6A、C)。

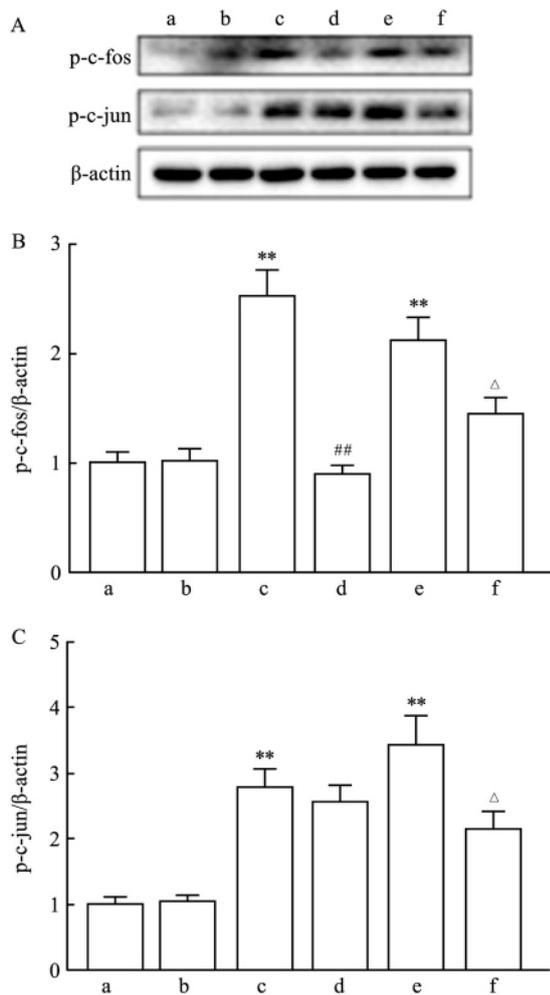


图4 小鼠肝脏中 c-fos 和 c-jun 蛋白磷酸化水平

A: 小鼠肝脏 p-c-fos 和 p-c-jun; B: 小鼠肝脏 p-c-fos 灰度分析; C: 小鼠肝脏 p-c-jun 灰度分析; a: Control 组; b: RSG 组; c: LPS 6 h 组; d: RSG + LPS 6 h 组; e: LPS 12 h 组; f: RSG + LPS 12 h 组; 与 Control 组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与 LPS 6 h 组比较: ##  $P < 0.01$ ; 与 LPS 12 h 组比较: Δ  $P < 0.05$

### 3 讨论

LPS 暴露诱导的小鼠炎症性肝损伤模型旨在复制病毒性肝炎诱导的人类暴发性肝衰竭<sup>[6]</sup>。课题组采用腹腔注射 LPS 模拟 ALI 的病理过程,观察了灌胃补充 RSG 对 LPS 诱发 ALI 的干预作用。显示 RSG 预处理可减轻 LPS 暴露诱发小鼠肝脏炎症细胞渗出,降低 LPS 暴露引起的小鼠血清 ALT 和 AST 水平的升高。以上实验结果表明 RSG 预处理可以减轻 LPS 暴露引起的小鼠 ALI,然而具体的保护机制仍未清楚。

一项早期的研究<sup>[7]</sup>表明,炎症信号参与了四氯化碳诱发的 ALI,肝脏炎症因子和趋化因子在 ALI

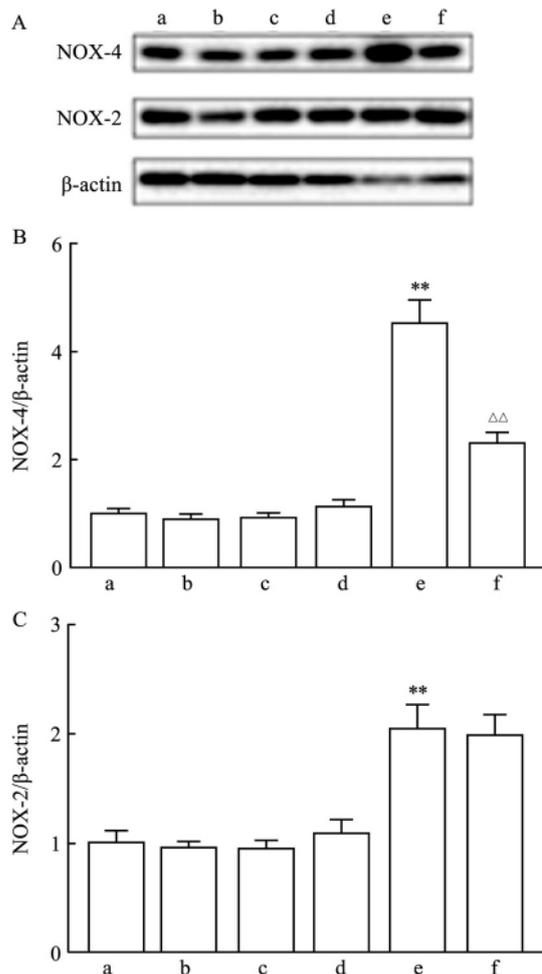


图5 小鼠肝脏中 NOX-4 和 NOX-2 蛋白表达水平

A: 小鼠肝脏 NOX-4 和 NOX-2 蛋白表达; B: 小鼠肝脏 NOX-4 灰度分析; C: 小鼠肝脏 NOX-2 灰度分析; a: Control 组; b: RSG 组; c: LPS 6 h 组; d: RSG + LPS 6 h 组; e: LPS 12 h 组; f: RSG + LPS 12 h 组; 与 Control 组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与 LPS 12 h 组比较: ΔΔ  $P < 0.01$

组中分泌明显增加,炎症因子的释放损伤了肝细胞膜和线粒体细胞膜,致使细胞通透型增加,导致了小鼠血液中 ALT 和 AST 的升高。AP-1 信号通路是一种重要的转录因子,调节一系列的细胞进程,包括细胞增殖、存活和分化。AP-1 是由 Jun、Fos、Maf 和 ATF 二聚体蛋白组成,c-jun 和 c-fos 是 2 种最重要的 AP-1 转录因子组成原件。在炎症情况下,AP-1 信号被激活并发生核转位以后,可以启动下游的促炎细胞介质和细胞因子<sup>[8]</sup>,AP-1 信号的激活参与了 ALI 的炎症性病理进程<sup>[9]</sup>。本研究表明 RSG 预处理可以抑制 LPS 所致小鼠血清炎症因子和趋化因子的分泌以及小鼠肝脏 c-jun 和 c-fos 的磷酸化。以上实验结果提示 RSG 预处理可能部分通过抑制 AP-1 信号降低炎症水平,减轻 LPS 暴露引起的小鼠 ALI。

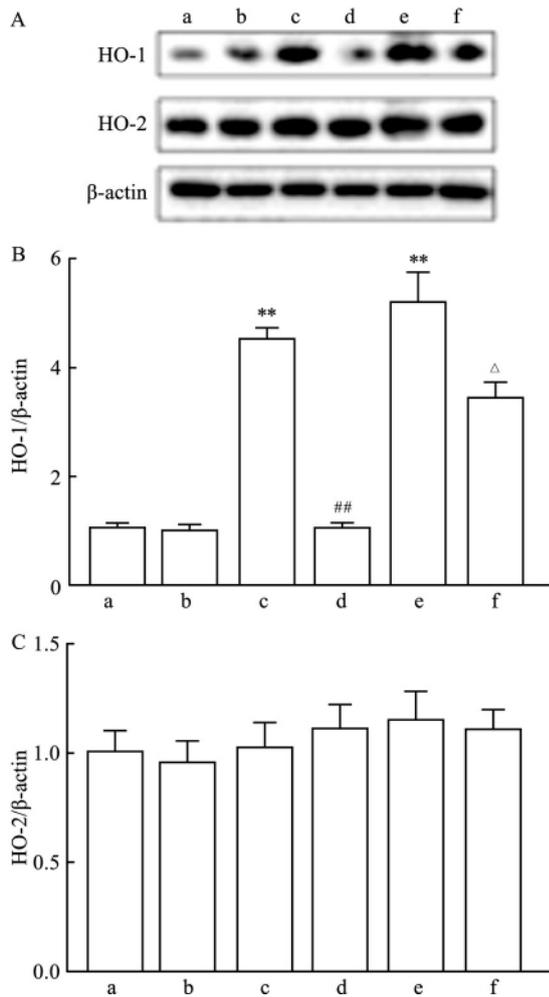


图6 小鼠肝脏中HO-1和HO-2蛋白表达水平

A: 肝脏HO-1和HO-2蛋白表达; B: 肝脏HO-1蛋白表达灰度分析; C: 肝脏HO-2蛋白表达灰度分析; a: Control组; b: RSG组; c: LPS 6 h组; d: RSG + LPS 6 h组; e: LPS 12 h组; f: RSG + LPS 12 h组; 与Control组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与LPS 6 h组比较: ##  $P < 0.01$ ; 与LPS 12 h组比较: Δ  $P < 0.05$

大量的研究<sup>[10]</sup>表明氧化应激在LPS所致的小鼠ALI中发挥着重要的作用,LPS暴露以后产生的过量活性氧(reactive oxygen species,ROS)会损伤肝细胞,导致ALT和AST的升高。而越来越多的证据<sup>[11]</sup>表明,NOXs是促进产生超氧化物的呼吸链酶,NOXs可以促进ROS的产生。本课题组前期研究<sup>[5]</sup>已发现,RSG具有抗氧化作用,可以拮抗APAP暴露引起的药物性肝损伤并抑制NOXs表达的上调。而本研究也显示,LPS暴露以后,肝脏中NADPH氧化酶的2个主要亚型,NOX-2和NOX-4蛋白表达在LPS注射后12 h明显增强。然而,RSG预处理可抑制LPS所致肝脏NOX-4表达的上调。以上研究结果提示,RSG预处理可能是通过抑制肝脏NOX-4的

表达减轻LPS所致的ALI。

HO是催化血红素生成CO、亚铁离子和胆红素的一种限速酶,主要包括HO-1、HO-2和HO-3。HO-1信号通路的激活通过加速分解代谢促氧化剂血红素和氧自由基的分解代谢,保护机体免受氧化应激损伤,是体内最易被诱导产生的抗氧化酶。HO-1正常生理情况下表达较低,但是受到损伤或刺激时,如缺氧应激、氧化应激、炎症反应、内毒素和重金属等,HO-1的表达会升高<sup>[12]</sup>。有研究<sup>[13-14]</sup>支持HO-1可以抑制肝脏组织丙二醛的形成,降低脂质过氧化,增加肝脏超氧化物歧化酶的生成,减轻氧化应激损伤。有研究<sup>[5]</sup>表明,肝脏HO-1在APAP诱导的药物性肝损伤中被诱导并高表达。同时本课题也显示LPS暴露以后,小鼠肝脏中HO-1蛋白表达明显升高,RSG预处理可抑制LPS暴露引起的小鼠肝脏HO-1表达的升高。以上结果提示,RSG预处理可能是通过调节肝脏抗氧化酶HO-1减轻LPS所致小鼠ALI。

综上所述,本课题研究了RSG预处理对LPS所致ALI过程中炎症反应和氧化应激的影响。研究结果显示,RSG预处理可能部分通过抑制AP-1信号降低LPS所致促炎因子和趋化因子的分泌;RSG预处理可能部分通过调节NOX-4和抗氧化酶HO-1减轻LPS所致ALI。因此,RSG有可能被用于预防和治疗LPS所致ALI。

### 参考文献

- [1] Duarte S, Baber J, Fujii T, et al. Matrix metalloproteinases in liver injury, repair and fibrosis [J]. Matrix Biol, 2015, 44-46: 147-56.
- [2] Cui Y, Qi S, Zhang W, et al. Lactobacillus reuteri ZJ617 culture supernatant attenuates acute liver injury induced in mice by lipopolysaccharide [J]. J Nutr, 2019, 149(11): 2049-55.
- [3] Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: Present concepts [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26 Suppl 1: 173-9.
- [4] Fu L, Chen Y H, Bo Q L, et al. Lipopolysaccharide downregulates 11β-hydroxysteroid dehydrogenase 2 expression through inhibiting peroxisome proliferator-activated receptor-γ in placental trophoblasts [J]. J Immunol, 2019, 203(5): 1198-207.
- [5] Wang J X, Zhang C, Fu L, et al. Protective effect of rosiglitazone against acetaminophen-induced acute liver injury is associated with down-regulation of hepatic NADPH oxidases [J]. Toxicol Lett, 2017, 265: 38-46.
- [6] Fink-Groner E, Finkin S, Zeeli S, et al. Indoline derivatives mitigate liver damage in a mouse model of acute liver injury [J]. Pharmacol Rep, 2017, 69(5): 894-902.

- [7] Zhang D G , Zhang C , Wang J X , et al. Obeticholic acid protects against carbon tetrachloride-induced acute liver injury and inflammation [J]. *Toxicol Appl Pharmacol* , 2017 , 314: 39 – 47.
- [8] Wang D , Zhang M , Wang T , et al. Green tea polyphenols prevent lipopolysaccharide-induced inflammatory liver injury in mice by inhibiting NLRP3 inflammasome activation [J]. *Food Funct* , 2019 , 10(7) : 3898 – 908.
- [9] Gupta S , Kumar P , Kaur H , et al. Selective participation of c-Jun with Fra-2/c-Fos promotes aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in tongue cancer [J]. *Sci Rep* , 2015 , 5: 16811.
- [10] Bae J , Min Y S , Nam Y , et al. Humulus japonicus extracts protect against lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute liver injury in rats [J]. *J Med Food* , 2018 , 21(10) : 1009 – 15.
- [11] Yang Y Q , Yan X T , Wang K , et al. Triptolide alleviates lipopolysaccharide-induced liver injury by Nrf2 and NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Front Pharmacol* , 2018 , 9: 999.
- [12] 许璐, 汤其强. 丹参酮 II A 抑制 HT22 海马神经元发生铁死亡的机制研究 [J]. *安徽医科大学学报* , 2019 , 54(6) : 833 – 9.
- [13] Ouyang Y , Li D , Wang H , et al. MiR-21-5p/dual-specificity phosphatase 8 signalling mediates the anti-inflammatory effect of haem oxygenase-1 in aged intracerebral haemorrhage rats [J]. *Ageing Cell* , 2019 , 18(6) : e13022.
- [14] Ryter S W , Choi A M. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: novel therapeutic strategies in critical care medicine [J]. *Curr Drug Targets* , 2010 , 11(12) : 1485 – 94.

## Protective effect and mechanism of rosiglitazone against lipopolysaccharide-induced acute liver injury

Huang Jiahui<sup>1</sup> , Wang Junxian<sup>1</sup> , He Wei<sup>1</sup> , et al

(<sup>1</sup>Dept of Gastroenterology , The Second People's Hospital of Anhui Province , Hefei 230041;

<sup>2</sup>Dept of Toxicology , Anhui Medical University , Hefei 230032)

**Abstract Objective** To investigate the effects and mechanism of pretreatment with rosiglitazone (RSG) on lipopolysaccharide (LPS)-induced acute liver injury (ALI). **Methods** 42 male CD-1 mice were randomly divided into six groups (7 mice every group): Control group, RSG group, LPS 6 h group, LPS 12 h group, RSG + LPS 6 h group, RSG + LPS 12 h group. Mice were supplemented with RSG (10 mg/kg) by gavage five consecutive days before LPS solely injection in the RSG and RSG + LPS groups. All mice were singly intraperitoneal injected with LPS (2 mg/kg) in the LPS and LPS + RSG groups. In the Control group and RSG group, mice were intraperitoneal injected with equal normal saline. All mice were sacrificed at 6 h and 12 h after LPS injection. Mice livers were collected and weighted. Some livers were used for HE staining to observe inflammatory cells infiltration and pathological damage. Serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected by Reitman. Serum tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) were measured via ELISA. The protein expression of activator protein 1 (AP-1) signaling, NADPH oxidases (NOX) and antioxidant enzymes were detected using Western blot. **Results** RSG pretreatment alleviated LPS-induced inflammatory cells infiltration and pathological damage. RSG pretreatment inhibited LPS-induced upregulation of serum ALT and AST in mice. RSG pretreatment attenuated LPS-induced hepatic c-fos and c-jun phosphorylation. RSG pretreatment mitigated LPS-induced upregulation of hepatic NOX-4. RSG pretreatment attenuated LPS-induced upregulation of hepatic haem oxygenase 1. **Conclusion** RSG pretreatment prevents LPS-induced ALI partially through inhibiting hepatic AP-1 signaling and NOX, and regulating antioxidant enzyme.

**Key words** rosiglitazone; lipopolysaccharide; acute liver injury; AP-1 signaling; NADPH oxidase 4; haem oxygenase 1