

网络出版时间: 2024-12-26 16:28:29 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20241226.1136.016>

富马酸二甲酯通过 NF- κ B/NLRP3 信号通路改善 DEHP 诱导的母鼠妊娠期肝内胆汁淤积

蒋月^{1,2,3}, 余芸^{2,3}, 张伦^{2,3}, 黄倩倩^{2,3}, 陶文康^{1,2,3}, 侯梦贞^{1,2,3}, 谢芳^{1,2,3}, 凌旭涛^{1,2,3}, 王建青^{1,2,3}(¹安徽医科大学药学院, 合肥 230032; ²安徽医科大学第一附属医院药学部, 合肥 230012;³安徽省公共卫生临床中心药学部, 合肥 230012)

摘要 目的 探讨富马酸二甲酯(DMF)对邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)暴露导致母鼠妊娠期肝内胆汁淤积(ICP)的保护作用及机制。方法 选用8周龄癌症研究所(ICR)雌鼠32只,自受孕开始随机分为4组:Ctrl组、DEHP组、DMF组、DEHP+DMF组。Ctrl组每日9:00 a.m.使用玉米油进行灌胃,DEHP组和DEHP+DMF组使用DEHP(200 mg/kg)进行灌胃,DMF组和DEHP+DMF组在妊娠第13~16天使用DMF(150 mg/kg)进行灌胃。在妊娠第16天灌胃结束后,禁食6 h,收集母鼠血液、肝脏、胎盘和羊水。对母鼠体质量和胎鼠体质量进行整理分析;生化仪检测血清总胆汁酸(TBA)、碱性磷酸酶(ALP)、天冬氨酸氨基转移酶/丙氨酸氨基转移酶(AST/ALT)水平以及肝脏、羊水、胎盘的TBA水平;HE染色观察肝脏组织病理变化;逆转录实时定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测母鼠肝脏炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、IL-1、IL-18和NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)的表达水平;蛋白质印迹实验检测核因子KappaB(NF- κ B)、NLRP3的表达水平。结果 与对照组相比,DEHP组母鼠和胎鼠体质量降低($P < 0.05$);母鼠血清TBA、ALP、AST/ALT水平以及肝脏、羊水和胎盘TBA水平增加($P < 0.05$);肝脏病理结果显示,肝组织出现病变、胆管变形、周围有炎性细胞浸润;母鼠肝脏炎症相关因子TNF- α 、IL-6、IL-1、IL-18、NLRP3转录水平增加($P < 0.05$);母鼠肝脏NF- κ B、NLRP3蛋白表达提高($P < 0.05$)。与DEHP组相比,DEHP+DMF组的母鼠和胎鼠体质量增加($P < 0.05$);母鼠血清TBA、ALP、AST/ALT水平以及肝脏、羊水TBA水平降低($P < 0.05$);肝组织病变程度改善;母鼠肝脏炎症相关因子TNF- α 、IL-6、IL-1、IL-18、NLRP3转录水平降低($P < 0.05$);母鼠肝脏NF- κ B、NLRP3蛋白表达降低($P < 0.05$)。结论 DMF可有效保护DEHP暴露导致母鼠ICP的发生,其作用可能是通过抑制NF- κ B/NLRP3通路,减轻肝脏炎症反应实现的。

关键词 妊娠期肝内胆汁淤积;富马酸二甲酯;邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯;炎症;NF- κ B;NLRP3 炎症小体

中图分类号 R-331

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2025)01-0117-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.01.016

妊娠期肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)是常见的妊娠特异性肝病。当ICP发生时,孕妇会出现瘙痒、肝功能异常和总胆汁酸(total bile acid, TBA)水平升高等临床表现,而胎儿则会有宫内生长受限(intrauterine growth restriction, IUGR)、早产、死亡等不良结局的风险^[1]。研究^[2]表明遗传、激素、免疫和环境因素都可能是ICP的发病因素。环境中邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯

[Di(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP]作为邻苯二甲酸酯类(phthalates, PAEs)使用最广泛的材料之一,被大量用于医疗器械、食品包装、玩具和婴儿产品等塑料制品中^[3]。但DEHP很容易释放到环境中^[4],对人类和动物造成潜在有害影响。课题组前期研究^[5]表明DEHP暴露会导致孕鼠ICP发生。研究^[6]表明ICP的发生通常伴随着炎症反应异常,抑制肝脏炎症是目前ICP治疗的重要策略。

富马酸二甲酯(dimethyl fumarate, DMF)是一种免疫调节药物,被批准用于治疗炎症性疾病,如银屑病和多发性硬化症^[7]。研究^[8-9]表明,DMF能够降低促炎因子表达,减少胆汁淤积性肝病发生,但能否改善ICP尚不清楚。该研究以DEHP诱导的ICP模型为基础,以炎症为切入点,探究DMF对ICP的改善作用和具体机制,为ICP的防治提供依据。

2024-11-15 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82073566);安徽省卫生健康科研项目(编号:AHWJ2023A20294);安徽医科大学青年科学基金(编号:2023xkj043);安徽省公共卫生临床中心安徽医科大学第一附属医院北区科研培育基金资助项目(编号:2023YKJ14、2023YKJ06、2023YKJ11)

作者简介:蒋月,女,硕士研究生;

王建青,女,教授,主任药师,博士生导师,通信作者, E-mail: jianqingwang81@126.com

1 材料与方法

1.1 材料 DEHP (批号: 117-81-7, 纯度 $\geq 99.5\%$)、DMF (批号: 624-49-7, 纯度 $\geq 97\%$) 购自美国 Sigma Aldrich 公司; 玉米油购自上海阿拉丁生化有限公司; 天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、TBA、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 试剂盒购自浙江伊利康生物技术有限公司; 实时定量 PCR 引物购自北京擎科生物科技有限公司; 实时定量 PCR 扩增试剂盒购自南京诺唯赞生物科技有限公司; NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor pyrin domain containing 3, NLRP3) 抗体 (批号: HY-P80246) 购自美国 MCE 公司; 核转录因子 - κ Bp65 (nuclear factor- κ B p65, NF- κ Bp65) (批号: 80979-4-RR)、磷酸化-NF- κ Bp65 (Phosphorylated-NF- κ Bp65, p-NF- κ Bp65) (批号: 82335-4-RR) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; GAPDH (批号: M20006S) 购自艾比玛特医药科技 (上海) 有限公司。

1.2 主要仪器 CascadaTMI 超纯水仪 (美国颇尔公司); D3024 台式高速离心机 (美国赛洛捷克公司); BX53 + DP80 + Cellsens 多功能荧光显微镜 (日本奥林巴斯公司); 7500 荧光定量 PCR 仪 (生命科技控股私人有限公司); 5427R 高速冷冻离心机 (德国艾本德股份公司); Bioprep-24R 生物样本均质仪 (杭州奥盛仪器有限公司); CS-T300 全自动生化分析仪 (长春迪瑞医疗科技股份有限公司); 5200- μ Li 显影仪 (上海天能科技有限公司)。

1.3 实验动物 选用 8 周龄癌症研究所 (institute of cancer research, ICR) 小鼠, 雄性体质量 36 ~ 38 g 共 16 只, 雌性体质量 27 ~ 29 g 共 32 只, 购自北京维通利华实验动物科技有限公司。生产许可证编号: SCXK(京) 2019-0010, 使用许可证编号: SYXK(皖) 2020-001。饲养环境适宜 (温度 20 ~ 25 $^{\circ}$ C, 湿度 50% ~ 55%) 一周后可用于实验。

1.4 模型制备与分组 按照 2 只雄性和 4 只雌性小鼠的比例进行合笼, 次日 7:00 a. m. 进行检查, 有阴道栓的定为雌鼠妊娠第 0 天 [gestational day, GD) 0]。将 ICR 孕鼠随机分为 4 组, 每组 6 只: 对照 (Ctrl) 组、DEHP 组、DMF 组、DEHP + DMF 组。每日 9:00 a. m. Ctrl 组使用玉米油灌胃, DEHP 组和 DEHP + DMF 组使用 DEHP (200 mg/kg) 灌胃^[3], DMF 组和 DEHP + DMF 组在 GD13—GD16 使用 DMF

(150 mg/kg) 灌胃。在 GD16 灌胃结束后, 禁食 6 h, 收集孕鼠母鼠血液、母鼠肝脏、胎盘和羊水。

1.5 生化指标检测 使用生化分析仪检测母鼠血清 TBA、ALP、AST、ALT 含量, 对肝脏、羊水、胎盘 TBA 进行检测。

1.6 肝脏组织病理学观察 将母鼠新鲜肝脏组织放入 4% 多聚甲醛溶液中浸泡处理, 室温放置摇床固定 24 h。进行脱水包埋并切片固定后, 用苏木精-伊红 (hematoxylin and eosin staining, HE) 染色, 在显微镜下观察并拍照。

1.7 逆转录实时定量聚合酶链式反应 (quantitative reverse transcription PCR, RT-qPCR) 分析 提取母鼠的 RNA, 将浓度定量在 1 000 ng/ μ l, 逆转录成 cDNA, 之后进行扩增反应, 计算相应基因的相对表达水平。相关引物信息见表 1。

表 1 基因的引物序列

Genes	Primer sequences (5'-3')
<i>18S</i>	F: GTAACCCGTTGAACCCCAT R: CCATCCAATCGGTAGTAGCG
<i>TNF-α</i>	F: AAAAGATGGGGGCGCTCCAGAA R: CCATTTGGGAACCTCTCATCCCTT
<i>IL-6</i>	F: TCTATACCACTTCACAAGTCGGA R: GAATTGCCATTGCACAACTCTT
<i>IL-1β</i>	F: AACTGCACTACAGGCTCCGAG R: TGCTTGGTTCCTTGTACAAAGC
<i>IL-18</i>	F: GACTCTTGCGTCAACTTCAAGG R: CAGGCTGTCTTTGTCAACGA
<i>NLRP3</i>	F: ATTACCGCCCCGAGAAAGG R: TCGCAGCAAAGATCCACACAG

1.8 Western blot 检测蛋白表达 用 SDS-PAGE 分离等量的总蛋白, 用特异性抗体 NLRP3 (1 : 1 000)、NF- κ Bp65 (1 : 5 000)、p-NF- κ Bp65 (1 : 4 000)、GAPDH (1 : 5 000) 4 $^{\circ}$ C 孵育一夜进行蛋白质印迹分析, 检测目的蛋白的表达, 使用 Image J 分析计算灰度值积分。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 25.0 软件来进行数据分析, 分析结果均以均数 $\pm$ 标准差表示。多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较使用 *t* 检验来分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DMF 减轻 DEHP 暴露对母鼠和胎鼠体质量的影响 与对照组相比, DEHP 组母鼠的体质量在 GD13 时下降 ($P < 0.05$), 在 GD14—GD16 期间下降

更显著 ($P < 0.01$), DEHP + DMF 组母鼠体质量有所回升, 但差异无统计学意义 (图 1A)。对胎鼠体质量进行统计, 结果显示, 与对照组相比, DEHP 组胎鼠体质量下降 ($P < 0.01$); 与 DEH 组比较, DEHP + DMF 组的胎鼠体质量上调 ($P < 0.05$) (图 1B)。对胎鼠质量分析并计算 IUGR 发生率, 结果显示, 与对照组相比, DEHP 组 IUGR 发生率增加 ($P < 0.01$), DEHP + DMF 组的发生率降低 ($P < 0.05$) (图 1C)。

2.2 DMF 保护 DEHP 暴露诱导母鼠 ICP 的發生
生化分析结果显示, 与对照组相比, DEHP 组母鼠血清 TBA、ALP、AST/ALT 水平升高 ($P < 0.01$), 母

鼠肝脏、羊水和胎盘中 TBA 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.05$)。与 DEHP 组相比, DEHP + DMF 组母鼠血清 TBA、ALP、AST/ALT ($P < 0.01$) 以及母鼠肝脏 ($P < 0.05$) 和羊水 TBA 水平 ($P < 0.01$) 均下降。见图 2。

2.3 DMF 减轻 DEHP 暴露对母鼠肝脏病理的影响
母鼠肝脏 HE 染色结果显示 (图 3), 对照组肝组织结构完整, 肝细胞形态一致, 胞核呈圆形居中, 胞质分布均匀; 与对照组相比, DEHP 组汇管区扩大、肝脏出现核溶解、坏死、大量炎症细胞浸润, 提示有炎症的發生。而 DMF 给药后改善了 DEHP 所引

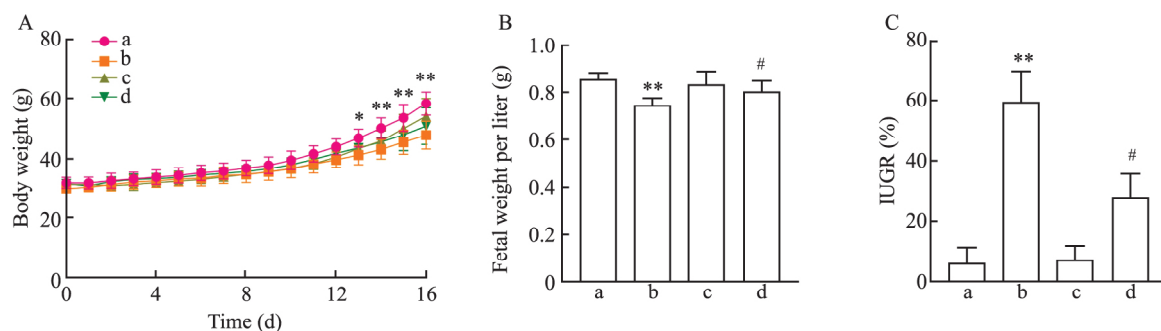


图 1 母鼠和胎鼠体质量变化

Fig. 1 Changes in body weight of maternal and fetal mice

A: GD0-GD16 body weight of maternal mice; B: Fetal weight per litter; C: IUGR rate per litter; a: Ctrl group; b: DEHP group; c: DMF group; d: DEHP + DMF group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ctrl group; # $P < 0.05$ vs DEHP group.

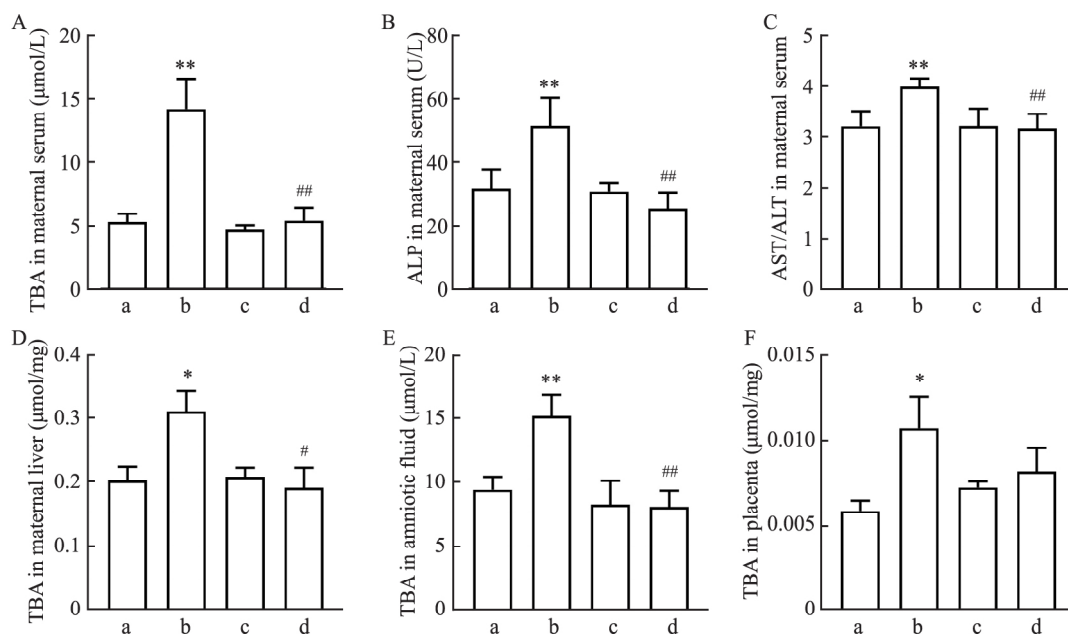


图 2 母鼠 TBA、ALP、AST/ALT 的变化

Fig. 2 Changes in TBA, ALP and AST/ALT of maternal mice

A: Total bile acid in serum; B: Alkaline phosphatase in serum; C: AST/ALT in serum; D: Total bile acid in maternal liver; E: Total bile acid in amniotic fluid; F: Total bile acid in placental; a: Ctrl group; b: DEHP group; c: DMF group; d: DEHP + DMF group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ctrl group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs DEHP group.

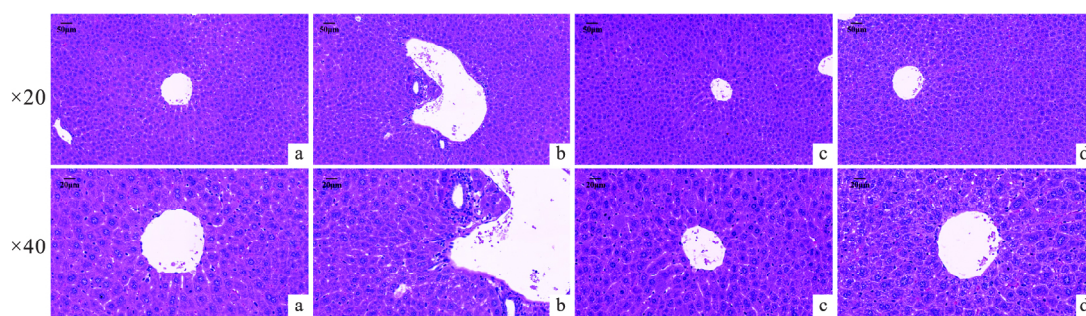


图3 HE染色母鼠肝脏组织病理形态学变化

Fig. 3 HE staining showed pathological changes in liver tissue of maternal mice

a: Ctrl group; b: DEHP group; c: DMF group; d: DEHP + DMF group.

起的病理变化。

2.4 DMF减轻DEHP暴露对母鼠肝脏炎症水平的影响 RT-qPCR进一步检测母鼠肝脏炎症相关因子的mRNA表达(图4A~E),与对照组相比,DEHP组中TNF- α 和NLRP3的表达升高($P < 0.05$),同时IL-6、IL-1和IL-18的表达也呈现升高趋势

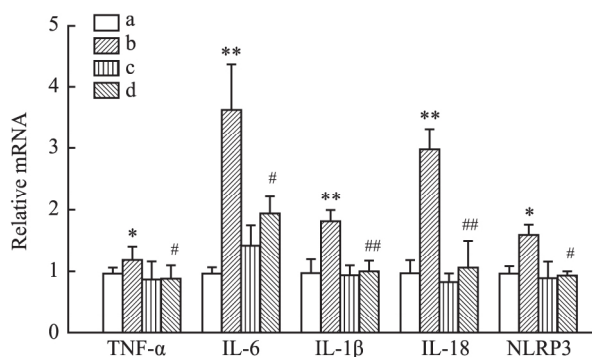


图4 母鼠肝脏炎症因子转录水平的表达

Fig. 4 Expression of inflammatory factors at transcriptional levels in maternal liver

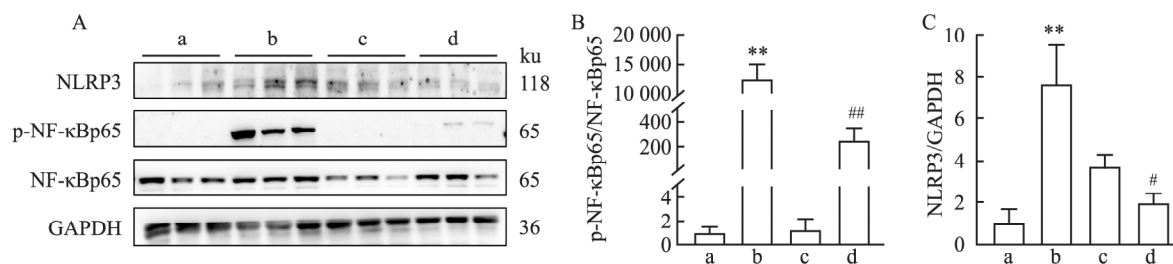
a: Ctrl group; b: DEHP group; c: DMF group; d: DEHP + DMF group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ctrl group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs DEHP group.

($P < 0.01$)。与DEHP组相比,DEHP + DMF组炎症因子水平表达均下调($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.5 DMF抑制DEHP暴露对NF- κ B/NLRP3的激活作用 Western blot结果显示(图5A~C),与对照组相比,DEHP暴露后p-NF- κ Bp65和NLRP3的蛋白表达均增加($P < 0.01$);与DEHP组相比,DEHP + DMF组的p-NF- κ Bp65($P < 0.01$)和NLRP3($P < 0.05$)蛋白表达均降低。提示DMF可以抑制DEHP所引起NF- κ Bp65磷酸化和NLRP3蛋白表达异常增加。

3 讨论

DEHP作为常用的合成化学品,存在于许多工业和家用产品中。Zhao et al^[10]研究表明,DEHP暴露会显著增加肝脏炎症相关蛋白的表达,促进肝脏坏死和纤维化。本课题组前期也证明DEHP会造成胆汁淤积,最终导致ICP的发生^[9]。鉴于ICP对母体和胎儿的伤害,寻找治疗的靶点和药物刻不容缓。DMF是一种有效的免疫调节因子,它能够激活Nrf2抗氧化途径,临床上被批准用于治疗多发性硬化

图5 母鼠肝脏NF- κ B和NLRP3蛋白水平的表达Fig. 5 Expression of NF- κ B and NLRP3 protein levels in maternal liver

A: Western blot was used to detect NF- κ Bp65, p-NF- κ Bp65 and NLRP3 protein levels; B: Quantitative analysis of expression of NF- κ Bp65 and p-NF- κ Bp65 proteins; C: Quantitative analysis of expression of NLRP3 protein; a: Ctrl group; b: DEHP group; c: DMF group; d: DEHP + DMF group; ** $P < 0.01$ vs Ctrl group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs DEHP group.

症^[1]。Vanani et al^[2] 研究指出 DMF 通过抑制 NF- κ B 活性和减少促炎介质的表达来发挥其抗炎作用,进而对肝脏进行保护。因此,本研究旨在炎症层面探讨 DMF 对 DEHP 诱导 ICP 的保护作用。

胆汁淤积发生时,胆汁酸累积会刺激胆管细胞,促进胆管增殖和胆管反应,最终对肝脏造成损伤^[3]。TBA、ALP、AST/ALT 是反映胆汁淤积肝损伤的重要指标^[4],在本研究中,DEHP 组 TBA、ALP、AST/ALT 的含量较对照组显著升高,这与课题组之前的研究结果一致^[4],而 DMF 给药后,能够显著下调这些指标,表明 DMF 对 DEHP 暴露诱发的 ICP 具有保护作用。已有研究^[3]指出,在肝脏中胆汁酸累积会造成炎性细胞的浸润和活化、氧化应激,甚至肝细胞死亡。本研究中组织病理切片结果显示 DEHP 暴露后母鼠肝脏中有细胞坏死和大量炎症细胞浸润,炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1、IL-18 和 NLRP3 转录水平显著提升,而 DMF 给药后,可改善母鼠肝脏的病变程度和炎性浸润,相关炎症因子水平也恢复至正常水平。这提示 DMF 对母鼠暴露 DEHP 所致 ICP 的保护作用可能与其抑制炎症相关。

NF- κ B 家族由 RelA (p65)、RelB、c-Rel、p50 和 p52 组成,主要以 p65 蛋白研究为主,磷酸化后的 p65 能够激活 TNF- α 、IL-6 等炎症因子,激发炎症反应,对肝脏造成伤害^[5]。据相关报道,DEHP 可通过 NF- κ B 信号通路诱导炎症相关基因的改变,造成肝脏等多器官损伤^[6]。本研究中也观察到 DEHP 暴露后可激活 NF- κ B 信号通路。NLRP3 炎症小体作为固有免疫的重要组分,可促进促炎细胞因子的成熟和分泌,诱导细胞死亡^[7]。研究^[8]表明 DEHP 暴露可激活 NLRP3 炎症小体,诱导炎症反应的发生,这与本实验结果一致。有研究^[9]表明 NF- κ B 信号通路的激活能诱导 NLRP3 的转录,敲低 p65 蛋白能够显著抑制 NLRP3 炎症小体的激活以及其下游炎性细胞因子 IL-1 和 IL-18 前体的表达,揭示了 NF- κ B/NLRP3 通路在炎症反应中的重要作用。本研究也表明 DMF 能够显著抑制 DEHP 对 p65 磷酸化作用和 NLRP3 的激活作用。

综上所述,DMF 可有效保护 DEHP 暴露导致母鼠 ICP 的发生,其作用机制可能与其抑制 NF- κ B/NLRP3 通路进而减轻肝脏炎症反应有关。该研究为 ICP 的防治提供了新的思路,DMF 可能成为临床上治疗 ICP 的潜在药物。

参考文献

[1] Tang M, Xiong L, Cai J, et al. Intrahepatic cholestasis of preg-

nancy: insights into pathogenesis and advances in omics studies [J]. *Hepatol Int*, 2024, 18(1): 50–62. doi: 10.1007/s12072-023-10604-y.

[2] Xiao J, Li Z, Song Y, et al. Molecular pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *Can J Gastroenterol Hepatol*, 2021, 2021: 6679322. doi: 10.1155/2021/6679322.

[3] Zhao Y, Li H X, Luo Y, et al. Lycopene mitigates DEHP-induced hepatic mitochondrial quality control disorder *via* regulating SIRT1/PINK1/mitophagy axis and mitochondrial unfolded protein response [J]. *Environ Pollut*, 2022, 292(Pt B): 118390. doi: 10.1016/j.envpol.2021.118390.

[4] Huang Y Q, Tang Y X, Qiu B H, et al. Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) induced lipid metabolism disorder in liver *via* activating the LXR/SREBP-1c/PPAR α / γ and NF- κ B signaling pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2022, 165: 113119. doi: 10.1016/j.fct.2022.113119.

[5] Zhao F, Zhang L, Qu M, et al. Obeticholic acid alleviates intrauterine growth restriction induced by di-ethyl-hexyl phthalate in pregnant female mice by improving bile acid disorder [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2023, 30(51): 110956–69. doi: 10.1007/s11356-023-30149-9.

[6] Zhang Y, Pan Y, Lin C, et al. Bile acids evoke placental inflammation by activating Gpbar1/NF- κ B pathway in intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *J Mol Cell Biol*, 2016, 8(6): 530–41. doi: 10.1093/jmcb/mjw025.

[7] Sangineto M, Grabherr F, Adolph T E, et al. Dimethyl fumarate ameliorates hepatic inflammation in alcohol related liver disease [J]. *Liver Int*, 2020, 40(7): 1610–9. doi: 10.1111/liv.14483.

[8] Yan N, Xu Z, Qu C, et al. Dimethyl fumarate improves cognitive deficits in chronic cerebral hypoperfusion rats by alleviating inflammation, oxidative stress, and ferroptosis *via* NRF2/ARE/NF- κ B signal pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 98: 107844. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107844.

[9] Xu Z, Tang W, Xie Q, et al. Dimethyl fumarate attenuates cholestatic liver injury by activating the NRF2 and FXR pathways and suppressing NLRP3/GSDMD signaling in mice [J]. *Exp Cell Res*, 2023, 432(2): 113781. doi: 10.1016/j.yexcr.2023.113781.

[10] Zhao Z B, Ji K, Shen X Y, et al. Di(2-ethylhexyl) phthalate promotes hepatic fibrosis by regulation of oxidative stress and inflammation responses in rats [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2019, 68: 109–19. doi: 10.1016/j.etap.2019.03.008.

[11] Gold R, Arnold D L, Bar-Or A, et al. Long-term safety and efficacy of dimethyl fumarate for up to 13 years in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: final ENDORSE study results [J]. *Mult Scler*, 2022, 28(5): 801–16. doi: 10.1177/13524585211037909.

[12] Vanani A R, Kalantari H, Mahdavinia M, et al. Dimethyl fumarate reduces oxidative stress, inflammation and fat deposition by modulation of Nrf2, SREBP-1c and NF- κ B signaling in HFD fed mice [J]. *Life Sci*, 2021, 283: 119852. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119852.

- [3] Pan P H, Wang Y Y, Lin S Y, et al. Plumbagin ameliorates bile duct ligation-induced cholestatic liver injury in rats [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2022, 151: 113133. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113133.
- [4] 屈明超, 赵凡, 张程, 等. 奥贝胆酸对 DEHP 亚急性暴露导致小鼠胆汁淤积的保护作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(10): 1608 – 13. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 – 1492.2022.10.018.
- [4] Qu M C, Zhao F, Zhang C, et al. Protective effect of obeticholic acid on cholestasis induced by subacute exposure to DEHP in mice [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2022, 57(10): 1608 – 13. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 – 1492.2022.10.018.
- [5] 谭超容, 李小飘, 冉俊艳, 等. 植物雌激素鹰嘴豆芽素 A (BCA) 对肝纤维化去势小鼠模型的改善作用及机制 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2024, 40 (1): 76 – 82. doi: 10.12449/JCH240114.
- [5] Tan C R, Li X P, Ran J Y, et al. Effect and mechanism of phytoestrogen chickpea a (bca) on hepatic fibrosis in ovariectomized mice [J]. *J Clin Hepatol*, 2021, 40(1): 76 – 82. doi: 10.12449/JCH240114.
- [6] Cheng X, Chen J, Guo X, et al. Disrupting the gut microbiota/metabolites axis by Di-(2-ethylhexyl) phthalate drives intestinal inflammation via AhR/NF- κ B pathway in mice [J]. *Environ Pollut*, 2024, 343: 123232. doi: 10.1016/j.envpol.2023.123232.
- [7] Kelley N, Jeltema D, Duan Y, et al. The NLRP3 Inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13). doi: 10.3390/ijms20133328.
- [8] Li M Z, Zhao Y, Dai X Y, et al. Lycopene ameliorates DEHP exposure-induced renal pyroptosis through the Nrf2/Keap-1/NLRP3/Caspase-1 axis [J]. *J Nutr Biochem*, 2023, 113: 109266. doi: 10.1016/j.jnuthio.2022.109266.
- [9] Chen S, Tang C, Ding H, et al. Maf1 ameliorates sepsis-associated encephalopathy by suppressing the NF- κ B/NLRP3 inflammatory signaling pathway [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 594071. doi: 10.3389/fimmu.2020.594071.

Dimethyl fumarate alleviates DEHP-induced intrahepatic cholestasis in maternal rats during pregnancy through NF- κ B/NLRP3 signaling pathway

Jiang Yue^{1,2,3}, Yu Yun^{2,3}, Zhang Lun^{2,3}, Huang Qianqian^{2,3}, Tao Wenkang^{1,2,3},

Hou Mengzhen^{1,2,3}, Xie Fang^{1,2,3}, Ling Xutao^{1,2,3}, Wang Jianqing^{1,2,3}

(¹Department of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032; ²Dept of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230012; ³Dept of Pharmacy, Anhui Public Health Clinical Center, Hefei 230012)

Abstract Objective To investigate the protective effect of dimethyl fumarate (DMF) on maternal intrahepatic cholestasis (ICP) during pregnancy induced by di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) exposure and its mechanism. **Methods** Thirty-two 8-week-old female institute of cancer research (ICR) mice were randomly divided into 4 groups: Ctrl group, DEHP group, DMF group and DEHP + DMF group. DEHP and DEHP + DMF groups were treated with DEHP (200 mg/kg) by gavage every morning at 9:00 a. m. DMF and DEHP + DMF groups were treated with DMF (150 mg/kg) from day 13 to day 16 of gestation by gavage. After completion of gavage on day 16 of pregnancy, maternal blood, maternal liver, placenta, and amniotic fluid were collected from pregnant mice after a six-hour abrosia. The body weight of the mother rats and the body weight of the fetus rats were sorted and analyzed; the levels of total bile acid (TBA), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase (AST/ALT) in serum and TBA in liver, amniotic fluid and placenta were detected by biochemical analyzer; HE staining was used to observe the pathological changes of liver tissue; Quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-6, IL-1, IL-18 and NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3) in the liver; Western blot was used to detect the expression of the nuclear factor KappaB (NF- κ B) and NLRP3. **Results** Compared with the control group, the body weight of the DEHP-treated dams and pups decreased ($P < 0.05$); the levels of TBA, ALP, AST/ALT in the serum of dams and the levels of TBA in the liver, amniotic fluid, and placenta of dams increased ($P < 0.05$); the histopathological results showed that liver tissue was damaged, bile ducts were deformed, and there was inflammatory cell infiltration around them; the levels of inflammation-related factors TNF- α , IL-6, IL-1, IL-18 and NLRP3 transcription in maternal liver increased ($P < 0.05$); the expression of NF- κ B and NLRP3

网络出版时间: 2024-12-26 16:52:10 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20241226.1136.017>

降低血小板活性氧生成对减少冷藏血小板被吞噬的作用

谢如锋¹, 王志成², 孙洁¹, 杨懿铭¹, 杨洁¹

(¹ 上海市血液中心血液工程学科, 上海 200051; ² 复旦大学附属上海华山医院输血科, 上海 200040)

摘要 目的 探究 N-乙酰半胱氨酸(NAC)的添加在血小板冷藏保存期间对活性氧(ROS)异常增加的影响,进而防止血小板被巨噬细胞和肝细胞识别并清除的作用。方法 将浓缩血小板分成室温组(22℃组)、冷藏组(4℃组)和 NAC 添加组; NAC 添加组为冷藏血小板中分别添加 5 mmol/L(N5 组)和 25 mmol/L(N25 组)的 NAC; 各组血小板保存 5 d 后,流式细胞仪检测血小板 ROS、活化等指标。佛波酯诱导的 THP-1 细胞或原代培养的 HepG2 细胞用于检测对各组血小板的吞噬作用。结果 保存 5 d 后,4℃组血小板 ROS 水平较 22℃组升高($P < 0.05$); 加入 NAC 后,ROS 水平则降低($P < 0.05$)。与 4℃组相比,N5 组血小板 CD62P、磷脂酰丝氨酸(PS)的表达以及 β -N-乙酰葡萄糖胺(β -GlcNAc)的暴露程度均降低($P < 0.05$)。THP-1 和 HepG2 对 N5 组血小板的吞噬率也低于 4℃组($P < 0.05$)。但添加 5 mmol/L NAC 对冷藏 5 d 血小板的计数、pH 值、CD42b 表达、 β -半乳糖(β -Gal)暴露和血小板凝集功能无显著影响。结论 冷藏血小板添加 NAC 可显著降低血小板 ROS 水平,有效减少冷藏血小板被细胞吞噬,提示 NAC 能防止血小板回输体内后被吞噬清除。

关键词 血小板; 冷藏保存; 活性氧; N-乙酰半胱氨酸; 吞噬; 冷藏损伤

中图分类号 R 457.11

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)01-0123-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.01.017

临床输注血小板一般以 $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的血库标准方法保存,为保证血小板活力和防止细菌及其他

病原体污染,其保存期限仅 5~7 d。与室温保存相比较,冷藏血小板可保存 10 d 以上,不仅降低污染风险,且具有更高的体外活力和更强的止血功能^[1-3]。然而低温可诱导血小板冷藏损伤,导致输注的血小板被快速清除,其体内回收率和生存时间显著下降^[4-7]。至今未见能应用于临床的、阻断血小板冷藏损伤的技术和方法。

N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)是一种抗氧化剂,具有清除多种活性氧(reactive oxygen

2024-11-14 接收

基金项目: 上海市卫生健康委员会科研课题计划项目(编号: 201940111、202140008); 上海市科学技术委员会科研计划项目(编号: 15ZR1438300)

作者简介: 谢如锋,女,主任技师;

杨洁,女,副研究员,通信作者, E-mail: yangjie@ sbc.org.cn

protein in maternal liver significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the DEHP group, the body weight of both dams and fetuses significantly increased in DEHP + DMF group ($P < 0.05$); the levels of TBA, ALP, AST/ALT in the serum of dams and amniotic fluid of fetuses decreased ($P < 0.05$); the degree of liver lesions was improved; the transcription levels of inflammation-related factors TNF- α , IL-6, IL-1, IL-18 and NLRP3 in maternal liver decreased ($P < 0.05$); the expression of NF- κ B and NLRP3 protein in maternal liver significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** DMF can effectively protect the DEHP exposure to lead to female ICP, and its mechanism may be through inhibiting the NF- κ B/NLRP3 pathway and reducing liver inflammation.

Key words intrahepatic cholestasis of pregnancy; dimethyl fumarate; di (2-ethylhexyl) phthalate; inflammation; NF- κ B; NLRP3 inflammasome

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 82073566); Health Research Project of Anhui Province (No. AHWJ2023A20294); Youth Fund of Anhui Medical University (No. 2023xkj043); Anhui Public Health Clinical Center, Scientific Research and Cultivation Foundation of the First Affiliated Hospital (North District) of Anhui Medical University (Nos. 2023YKJ14, 2023YKJ06, 2023YKJ11)

Corresponding author Wang Jianqing, E-mail: jianqingwang81@126.com