·实验研究·

PPARα激动剂 WY14643 对大鼠应激性肝损伤的保护作用

贺珍凤[1],赵春鹤[1,2],臧林泉[1]

(1 广东药科大学药理系,广州 510006;2 北京海金格医药科技股份有限公司,北京 100000)

[摘要] **目的:**探讨过氧化物酶体增殖物激活受体α(PPARα)激动剂 WY14643 对应激性肝损伤的保护作用。**方法:**将 14 只雌性 SD 大鼠随机分为 2 组:对照组(NC)和模型组(SLI),每组各 7 只,采用水浸束缚法建立应激性肝损伤模型,造模 21 d 后,HE 染色法观察肝脏组织形态学变化,酶联免疫吸附测定法(ELISA 法)测定血清皮质酮(CORT)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)含量,转录组测序技术寻找对照组和模型组的差异表达基因,并通过荧光定量 PCR(qRT-PCR)对差异表达基因进行验证。选择差异表达基因 PPARα 激动剂 WY14643,将 24 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、WY14643 低剂量组(WYL)和 WY14643 高剂量组(WYH),在每天束缚应激前 1 h,WYL 和 WYH 组分别腹腔注射 0.5 和 1 mg·kg^{-1}的 WY14643,对照组和模型组腹腔注射等剂量生理盐水,通过水浸束缚应激实验观察 WY14643 是否具有抗应激性肝损伤的保护作用及分子机制。**结果:**ELISA 结果显示 WY14643 可减少大鼠血清 CORT,ALT,AST,TNF-α,IL-1β,TC 和 TG 含量。肝脏 HE 染色结果显示,WY14643 能减轻应激产生的肝脏损伤。Western Blot 结果显示,WY14643 可降低大鼠肝脏 PI3K,AKT 和 NF-κB 的蛋白表达。**结论:**WY14643 能改善水浸束缚应激所致的肝损伤,且该作用可能与其抑制 PI3K/AKT/NF-κB 通路有关。

[关键词] 应激性肝损伤;水浸束缚;WY14643

[中图分类号] R943 [文献标志码] A [文章编号] 1003-3734(2021)16-1509-10

Protective effect of PPARα agonist WY14643 on stress-induced liver injury in rats

HE Zhen-feng[1], ZHAO Chun-he[1,2], ZANG Lin-quan[1]

(1 *School of Pharmacology, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou* 510006, *China*;
2 *Beijing Highthink Pharmaceutical Technology Service Co., Ltd., Beijing* 100000, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the protective effect of PPARα agonist WY14643 on stress-induced liver injury. **Methods**: Fourteen female SD rats were randomly divided into control group (NC) and model group (SLI), 7 in each group. The stress-induced liver injury model was established by the water immersion restraint method. After 21 days of modeling, the morphological changes of liver tissue were observed by HE staining method, serum corticosterone(CORT), alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), tumor necrosis factor-α(TNF-α), interleukin-1β(IL-1β), total cholesterol(TC), triglyceride(TG) contents were measured by ELISA method, transcriptome sequencing technology was used to find the differentially expressed genes between control group and model group, and qRT-PCR was used to verify the differentially expressed genes. The differentially

[基金项目] 广东省攀登计划基金资助项目(pdjh2020b0304);广东省研究生示范课程建设基金资助项目(2018SFKC25);广东药科大学创新强校其他类基金资助项目(2017QTLXXM27)

[作者简介] 贺珍凤,女,硕士研究生,主要从事药物研发与转化研究。E-mail:921351523@qq.com。

[通讯作者] 臧林泉,男,教授,博士,主要从事新药研发与分子药理学研究。E-mail:zanglq@gdpu.edu.cn。

expressed gene PPARα agonist WY14643 was selected, and 24 SD rats were randomly divided into control group, SLI, WY14643 low-dose group (WYL) and WY14643 high-dose group (WYH). One hour before the daily restraint stress, WYL and WYH groups were intraperitoneally injected with 0.5 and 1 mg·kg^{-1} of WY14643, respectively. The control group and model group were intraperitoneally injected with the equal doses of saline, and water immersion restraint stress experiment was performed to observe whether WY14643 has anti-stress protective effect and molecular mechanism of liver injury. **Results**: ELISA results showed that WY14643 could reduce rat serum CORT, ALT, AST, TNF-α, IL-1β, TC, TG contents. The results of liver HE staining showed that WY14643 could reduce liver damage caused by stress. Western blot results showed that WY14643 could reduce the protein expression of PI3K, AKT and NF-κB in rat liver. **Conclusion**: WY14643 can improve the liver damage caused by water immersion restraint stress, and this effect may be related to its inhibition of PI3K/AKT/NF-κB pathway.

[**Key words**] stress-induced liver injury; water immersion restraint; WY14643

应激反应是指机体在受到外部环境变化或内部刺激时所作出的神经反应、内分泌反应和生理反应等适应性反应[1],适当的应激可增强机体抵抗损伤的活动能力和反应能力[2]。但是,长期过度的应激会对机体造成损害,导致脏器缺血缺氧、多器官功能衰竭甚至死亡[3]。应激性肝损伤(stress-induced liver injury,SLI)是指机体因应激出现的不同程度失代偿导致的肝损伤,导致这一过程的因素主要有:缺氧-复氧、库普弗细胞的过度激活和氧化应激、肠源性脂多糖和去甲肾上腺素的大幅升高以及应激激素的过度产生和交感神经的活化[4]。WY14643 是过氧化物酶体增殖物激活受体 α(PPARα)的选择性激动剂,具有降血糖、抗炎、抗肿瘤等作用[5],但其抗应激性肝损伤的作用尚不十分清楚。本研究通过水浸束缚法建立大鼠应激性肝损伤模型,探讨 WY14643 对应激性肝损伤的保护作用。

材料和方法

1 试药和试剂

WY14643(上海麦克林生化科技有限公司,批号:C10772600,规格:250 mg,纯度:≥98%);皮质酮(CORT)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、ELISA 检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司);单克隆兔抗 PI3K、单克隆兔抗 AKT、单克隆兔抗 NF-κB、单克隆兔抗 IκBα(碧云天生物技术研究所);单克隆鼠抗 GAPDH(武汉 Proteintech 公司)。

2 仪器

Multiskan FC 型酶标仪(美国 Thermo 公司);CR3i 型冷冻多功能离心机(美国 Thermo 公司);DBC209W 型低温冰箱(中国西门子公司)。

3 实验动物

SPF 级雌性 6 周龄 SD 大鼠,38 只,体重 130 ~ 160 g,购自广东省动物中心,动物许可证号:SCXK(粤)2018-0002。饲养温度(23 ± 2) ℃,照明时间 12 h·d^{-1}(7:00 ~ 19:00)。本实验所有动物操作均严格按照美国国立卫生研究院颁布的《实验动物的照顾与使用指南》执行。

4 动物分组及模型建立

SD 大鼠 14 只,适应性喂养 1 周后,随机分为对照组(NC)和模型组(SLI),将模型组大鼠置于自制固定器中,垂直放入(20 ± 2) ℃的水中,水面与大鼠胸骨剑突持平,每天束缚 10 h,其余时间自由饮食进水。每日观察动物宏观特征并记录饮食、体重变化。21 d 应激结束后乙醚麻醉,腹主动脉采血,静置后分离血清,于 -80 ℃超低温冰箱保存。选择 PPARα 激动剂 WY14643,采用水浸束缚法建立应激性肝损伤模型:SD 大鼠 24 只随机分成 4 组:对照组(NC)、模型组(SLI)、WY14643 低剂量组(0.5 mg·kg^{-1},WYL)和 WY14643 高剂量组(1 mg·kg^{-1},WYH),在每天束缚应激前 1 h,WYL 和 WYH 组分别腹腔注射 0.5 和 1 mg·kg^{-1}的 WY14643,对照组和模型组腹腔注射等剂量生理盐水,除对照组外,其余各组采用水浸束缚法连续造模 21 d。

5 肝脏组织形态学检查

肝脏组织 4% 多聚甲醛固定 24 h 后,包埋切片,进行 HE 染色,在光学显微镜下观察肝脏组织形态学变化。

6 血清学指标测定

腹主动脉取血后静置 30 min,于 4 ℃ 3 000 r·min^{-1}离心 15 min,分离血清。用 ELISA 法测定大

鼠血清中 CORT,ALT,AST,TNF-α,IL-1β,TC 和 TG 含量,实验操作严格按照说明书进行。

7 cDNA 文库构建和 Illumina 测序

每组取 3 只大鼠提取肝脏组织总 RNA,使用 NanoDrop 测定 RNA 纯度,Qubit RNA HS Assay Kit 测定 RNA 浓度,同时使用 Agilent 4200 TapeStation 检测 RNA 的完整性。RNA 样品检测合格后,通过 PCR 扩增构建 cDNA 文库,质检合格的 cDNA 文库通过 Illumina PE150 平台进行测序。

8 差异表达基因分析

将测序后得到的原始序列进行过滤,通过 DESeq2 平台获得对照组和模型组之间差异表达基因,通过 $|\log2(\text{FoldChange})| > 1$ 和 FDR < 0.05 筛选差异基因。

9 差异表达基因的基因本体(GO)功能富集及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

对筛选出的差异表达基因应用 ClusterProfiler 超几何分布算法进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。

10 实时荧光定量 PCR

采用 TRIzol 裂解法提取肝脏总 RNA,按 RT-PCR 试剂盒说明书进行逆转录合成 cDNA 后,按照 SYBR Green 试剂盒说明书进行 PCR 扩增。引物由上海生工合成,引物信息见表 1。

表 1 qPCR 中的引物序列

名称	上游引物(5'-3')	下游引物(3'-5')
Gapdh	ACAGCAACAGGGTGGTGGAC	TTTGAGGGTGCAGCGAACTT
Arnt1	CTTGCACCTCACACGCTGGAC	GGCTGTCACTCCCACCCTCTG
Per1	TGGTGGAGGTCACGGAGTCATC	AGCCTGTGCCAGAGCGAGAG
Scd	CCACAACTACCATCACGCCTTCC	AGCCATGCAGTCGATGAAGAACG
Plin2	AGCTCCACTCCACTGTCCATCTG	TCGTCCGTGTCGTCGTAGCC
Cpt1a	CAAGTCAACGGCAGAGCAGAGC	TCATGGCGAGGCGGTACAGG
Orm1	CAGTGAGCAGCAGAAGCAGCAG	GGTAGAGTGGGCATGGGGACAG
Cyp8b1	GCGATGAAGGTGTGCGAGAG	GTCTCTTCCATCACGCTGTCCAG
Apoa1	CAAGGACAGCGGCAGAGACTATG	TGTAGGCGACCAACAGTTGACC
Pparα	AGCATGCTGTCCTCCTTAGATGAAC	ATGATGTCGAAGAATGGCTTCCTC
Fabp4	GTCCTGGTACATGTGCAGAA	TCCGCACTGAAGATGTTCTC

11 免疫组织化学

肝组织切片脱蜡后,用 3% 过氧化氢(H_2O_2)室温孵育 10 min,去除内源性过氧化物酶,加一抗 PPARα 4 ℃过夜,加入二抗,室温孵育 1 h,二氨基联苯胺(DAB)显色,封片,于光镜下观察蛋白表达变化。

12 蛋白免疫印迹

提取肝脏组织总蛋白后,通过 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量。配制十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶,上样,电泳分离,转膜,5% 牛血清白蛋白(BSA)封闭。一抗:PI3K 抗体、AKT 抗体、NF-κB 抗体、IκBα 抗体、GAPDH 抗体,4 ℃孵育过夜。洗膜,加入二抗,室温孵育 1 h,洗膜,于化学发光仪上进行显影。

13 统计学方法

所有结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析和 t 检验进行统计学检验,$P < 0.05$ 认为两组数据有统计学差异,$P < 0.01$ 认为两组数据有显著性差异。

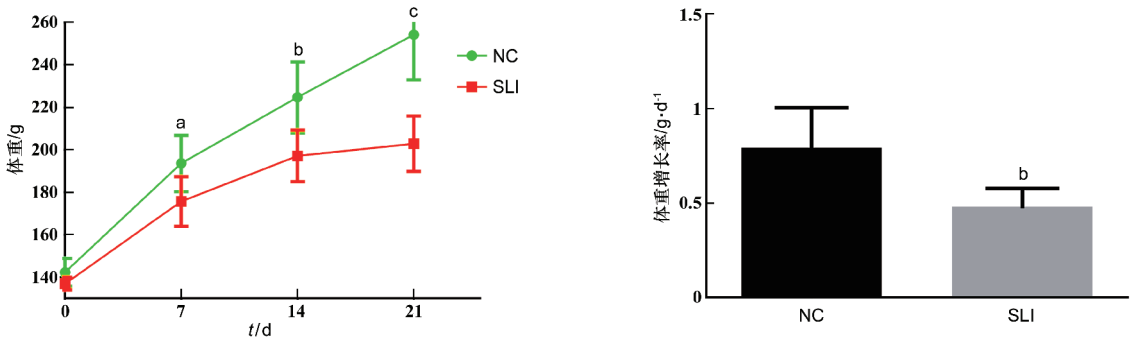
结　果

1 慢性应激对大鼠一般行为状态的影响

应激反应对大鼠行为具有显著的影响,对照组大鼠进食正常,毛发柔顺光亮,反应灵敏;模型组大鼠进食增加,造模初期表现出易怒和烦躁不安,随着造模时间的延长,模型组大鼠开始精神萎靡、反应迟钝、理毛行为减少、毛发杂乱无光泽。

2 慢性应激对大鼠体重的影响

如图 1 所示,对照组大鼠体重呈直线的趋势增长,而模型组大鼠从造模的 d 7 开始,体重增长明显减缓,在应激的 d 21 时,模型组大鼠的体重显著低于对照组($P < 0.001$),平均体重增长率显著低于对照组($P < 0.01$)。

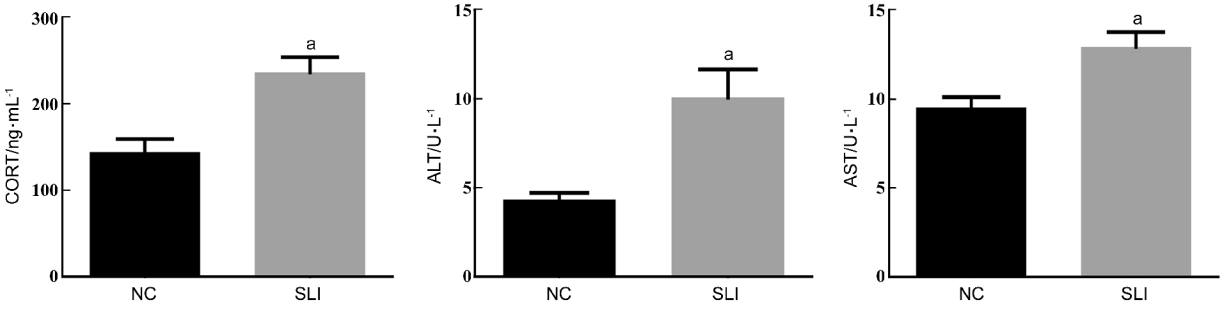


与对照组相比，a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，c：$P<0.001$

图 1　大鼠平均体重及平均体重增长率（$n=7$）

3　慢性应激对大鼠血清 CORT，ALT 和 AST 含量的影响

CORT 是反映下丘脑-垂体-肾上腺轴（hypothalamus pituitary adrenal axis，HPA axis）活性的重要指标，HPA 轴活化是应激反应的核心。如图 2 所示，与对照组相比，模型组大鼠血清 CORT 含量显著升高（$P<0.01$），表明应激模型成功建立。ALT 和 AST 是肝脏受损的重要指标，在肝细胞受到损伤时从肝细胞内释放入血液。与对照组相比，ALT 和 AST 含量显著升高（$P<0.01$），表明慢性应激会对肝脏造成损伤。

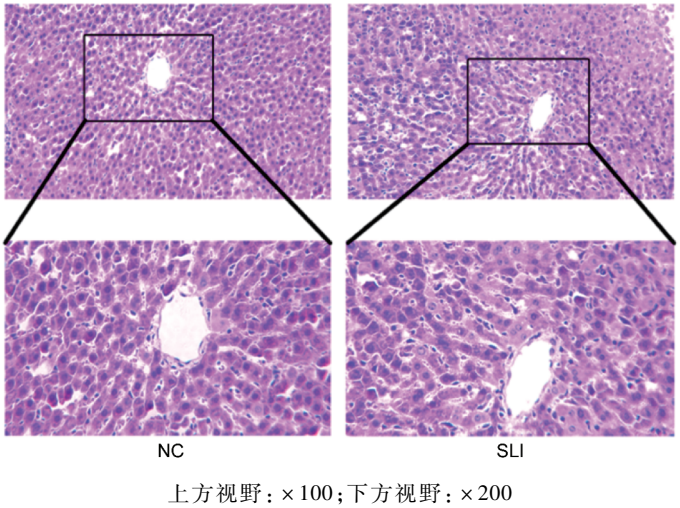


与对照组相比，a：$P<0.01$

图 2　水浸束缚应激对大鼠血清 CORT，ALT，AST 水平的影响（$n=3$）

4　慢性应激对肝脏组织形态学影响

如图 3 所示，对照组大鼠未见明显病理损害，肝细胞形态正常，肝索结构清晰可辨，肝索围绕于中央静脉呈放射状排列，未见肝细胞变性、坏死。模型组大鼠肝小叶中心部有炎性细胞浸润，肝细胞之间间隙变大，肝细胞排列紊乱，部分小叶内可见坏死灶。



上方视野：×100；下方视野：×200

图 3　水浸束缚应激对大鼠肝脏组织形态学影响（HE 染色）

5 慢性应激大鼠肝脏差异基因表达谱

通过转录组测序技术，检测模型组和对照组肝脏组织 mRNA 的表达变化，并绘制差异表达火山图。如图 4 所示，共有 1 977 个差异表达基因，其中上调表达的基因有 1 243 个，下调表达的基因有 734 个。

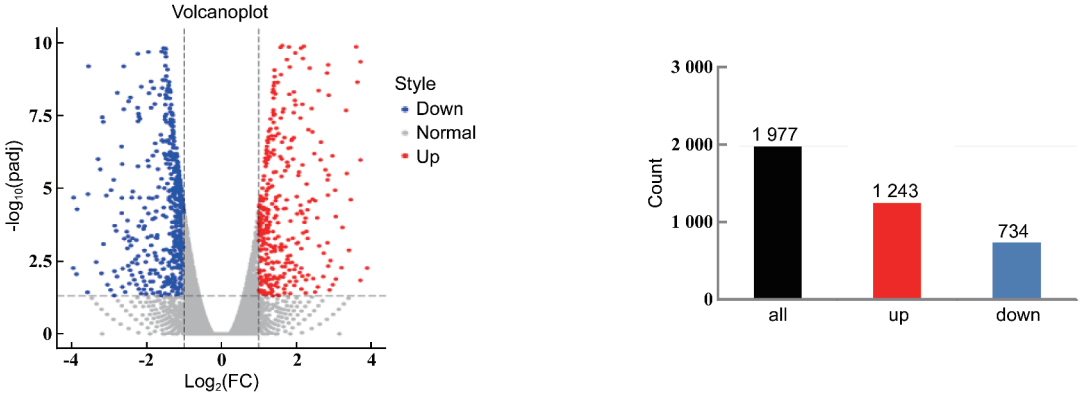


图 4 大鼠肝脏组织差异表达基因火山图

6 差异表达基因功能富集分析

GO 功能富集分析可以对基因在细胞内的生物过程、分子功能及细胞组成进行描述。通过 GO 功能富集可知（见图 5），模型组与对照组差异表达基因主要参与脂肪酸代谢、脂质生物合成和小分子生物合成过程，基因产物主要位于线粒体、过氧化物酶体中。提示在应激性肝损伤下，线粒体、过氧化物酶体等细胞器内的脂质代谢相关酶、蛋白的数目及活性发生变化，引起肝脏脂质代谢紊乱。因此，脂质代谢相关基因表达的变化可能参与应激性肝损伤过程。

KEGG 整合了基因组、化学和系统功能信息，可以预测差异基因主要富集的代谢途径。通过 KEGG 功能富集分析可知（见图 5），差异表达基因主要富集在 PPAR、脂肪酸合成、过氧化物酶体、脂肪酸代谢、细胞因子及其受体相互作用、Janus 激酶/信号转导与转录激活因子（JAK-STAT）、腺苷酸激活蛋白激酶（AMPK）等信号通路，提示在应激性肝损伤过程中，脂质代谢相关通路的变化与肝损伤密切相关，可能是应激性肝损伤的潜在治疗靶点，见图 5。

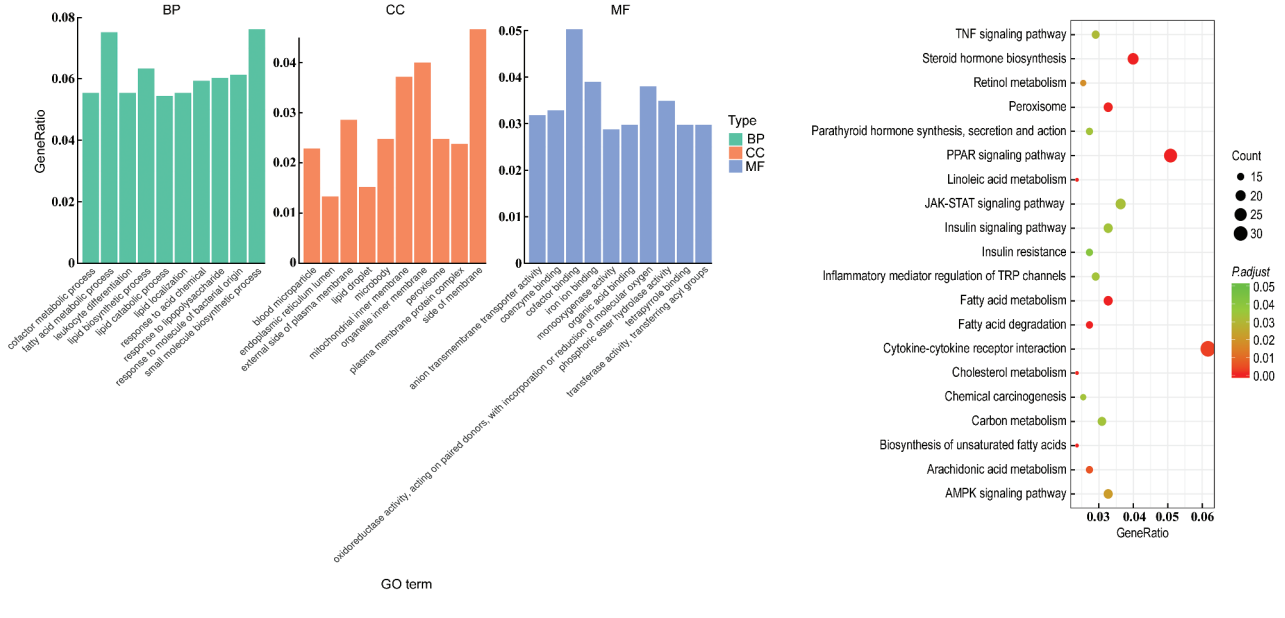


图 5 差异表达基因 GO 功能富集分析及 KEGG 通路分析

7 应激性肝损伤脂质代谢相关基因表达变化

如图 6 所示，在应激性肝损伤中，参与脂质合成的差异表达基因共有 44 个，其中上调表达基因共 26 个，下调表达基因共 18 个。脂质合成的关键酶乙酰辅酶 A 羧化酶（*Acaca*，*Acacb*）、脂肪酸合酶（*Fasn*）和硬脂酰辅酶 A 去饱和酶（*Scd*）上调表达；脂质分解的关键酶肉碱脂酰转移酶Ⅰ（*Cpt1a*）和肉碱脂酰转移酶Ⅱ（*Cpt2*）下调表达。总体而言，脂质合成相关基因上调的数目多于下调，脂质分解相关基因下调的数目多于上调，初步认为，在应激性肝损伤中，肝脏脂质合成增加、分解减少，这些变化可引起脂质堆积，导致肝损伤的发生。

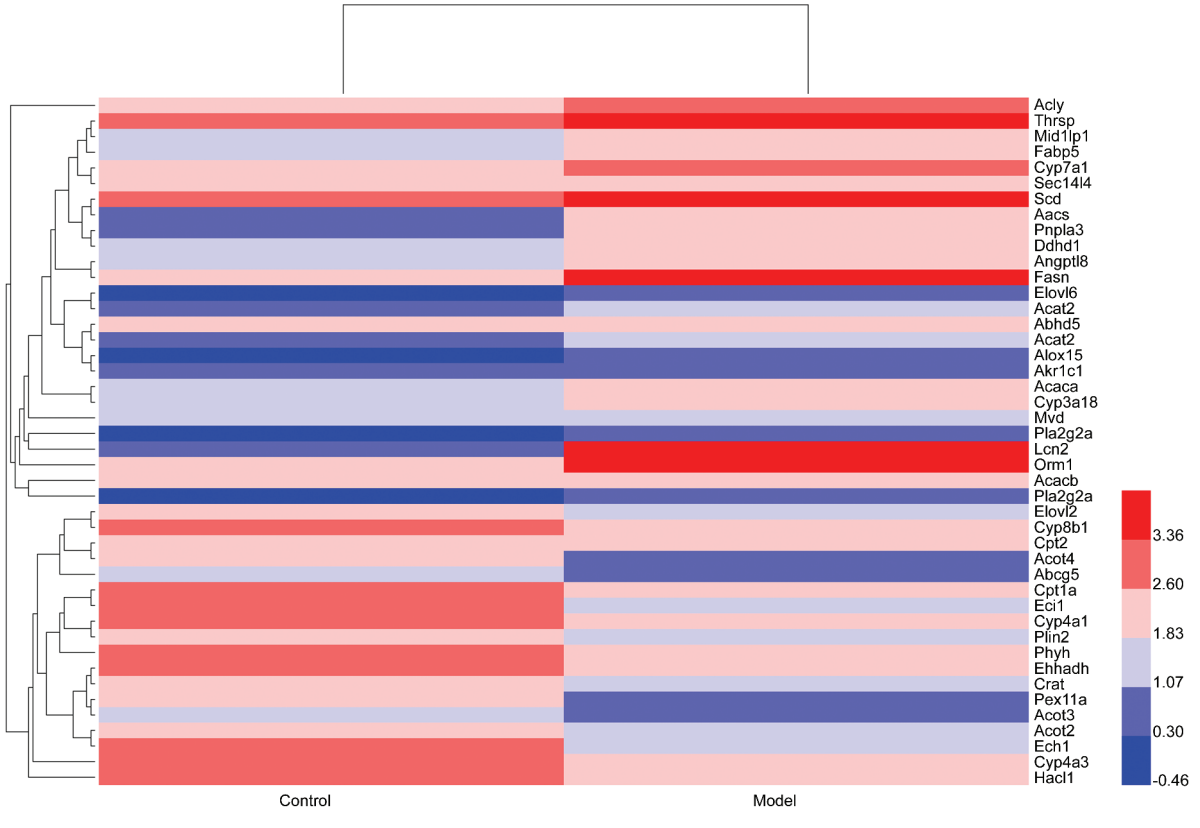


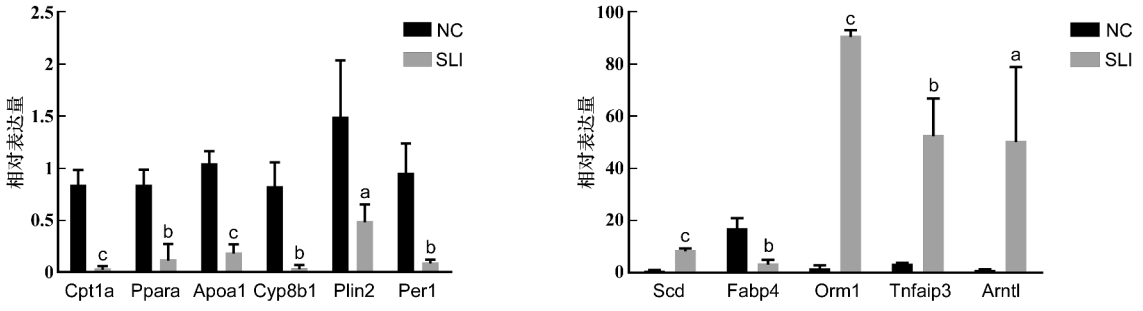
图 6 脂质代谢相关差异表达基因热图

8 qRT-PCR 验证差异基因结果

qRT-PCR 结果显示，与对照组相比，*Arntl*，*Scd* 和 *Orm1* 表达上调，*Per1*，*Plin2*，*Cpt1a*，*Cyp8b1*，*Apoa1*，*Pparα* 和 *Fabp4* 表达下调，qRT-PCR 结果与转录组测序结果一致，表明转录组测序结果准确，见表 2 及图 7。在转录组测序结果中，模型组脂质代谢紊乱，脂质合成增加（*Scd*，*Fasn*，*Elovl6*，*Acaca* 和 *Acacb* 上调），脂质分解减少（*Cpt1a*，*Eci1*，*Crat*，*Acot2*，*Ech1* 和 *Cyp8b1* 下调），脂质转运障碍（*Lcn2*，*Orm1* 和 *Fabp5* 上调，*PPARα* 和 *Apoa1* 下调）。肝脏脂质合成增加和分解减少会导致脂质堆积，脂质过量聚集可导致肝脏脂肪变性及肝脏炎症。

表 2 转录组测序差异表达基因

Gene	$\log_2$(Fold Change)	Style
Arntl	4.064 2014 02	Up
Per1	−2.100 928 471	Down
Scd	2.942 471 605	Up
Plin2	−1.834 752 988	Down
Cpt1a	−4.033 082 143	Down
Orm1	5.238 674 631	Up
Cyp8b1	−3.363 160 631	Down
Apoa1	−1.920 661 821	Down
Pparα	−1.804 332 764	Down
Fabp4	−3.430 021 9	Down

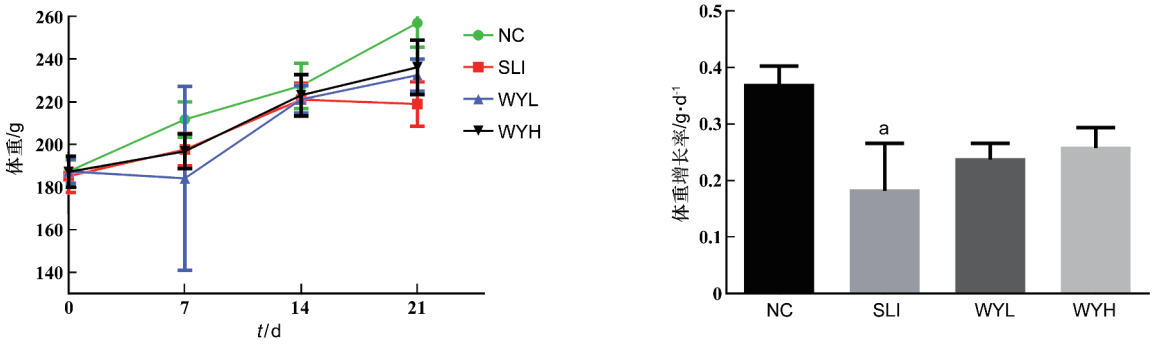


与对照组相比，a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，c：$P<0.001$

图 7 差异表达基因 qRT-PCR 验证（$n=3$）

9 PPARα 激动剂 WY14643 对大鼠一般行为状态及体重的影响

通过差异表达基因分析，发现模型组 PPARα 下调，采用 PPARα 激动剂对应激性肝损伤大鼠进行干预治疗，观察 WY14643 在应激性肝损伤中的作用。实验结果表明，随着造模时间延长，模型组大鼠逐渐表现出精神萎靡、毛发暗黄杂乱，体重增长率显著低于对照组（$P<0.001$）；而 WY14643 治疗后，大鼠一般行为状态和体重得到改善，WYL 和 WYH 组体重增长率较模型组有所增加，见图 8。

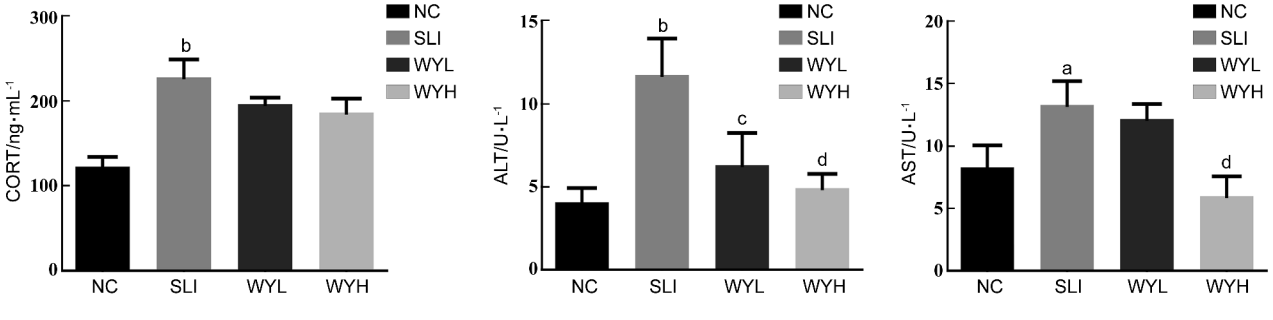


与对照组相比，a：$P<0.001$

图 8 大鼠平均体重及平均体重增长率（$n=6$）

10 WY14643 对水浸束缚大鼠血清 CORT，ALT 和 AST 含量的影响

如图 9 所示，造模 21 d 后，模型组大鼠血清 CORT（$P<0.01$），ALT（$P<0.01$）和 AST（$P<0.05$）含量显著升高，而经 WY14643 干预后，血清 CORT，ALT 和 AST 含量有所下降，且 WYH 组疗效更为显著，说明 WY14643 具有抗应激作用，且 1 mg·kg^{-1}的剂量下疗效更加显著。



与对照组相比，a：$P<0.05$，b：$P<0.01$；与模型组相比，c：$P<0.05$，d：$P<0.01$

图 9 大鼠血清 CORT，ALT，AST 水平变化（$n=3$）

11 WY14643 可减轻慢性应激导致的肝损伤

如图 10 所示,对照组大鼠肝细胞形态正常,以中央静脉为中心呈放射状排列,无明显炎细胞浸润、坏死或变性。模型组肝脏可见炎细胞浸润、细胞核皱缩、肝细胞排列紊乱。用 WY14643 干预后,肝脏损伤程度明显改善,由此初步判断 WY14643 对应激性肝损伤具有较明显的保护作用。

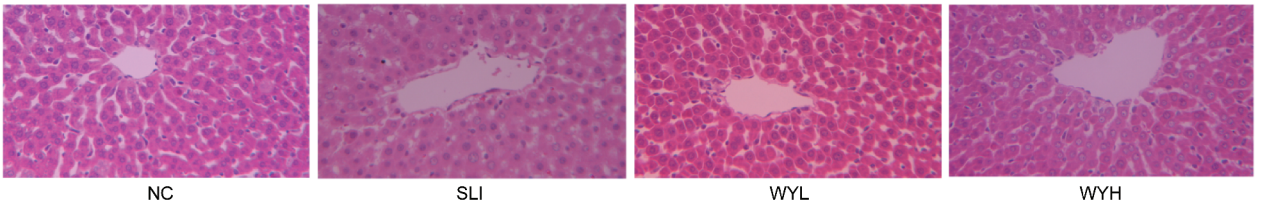
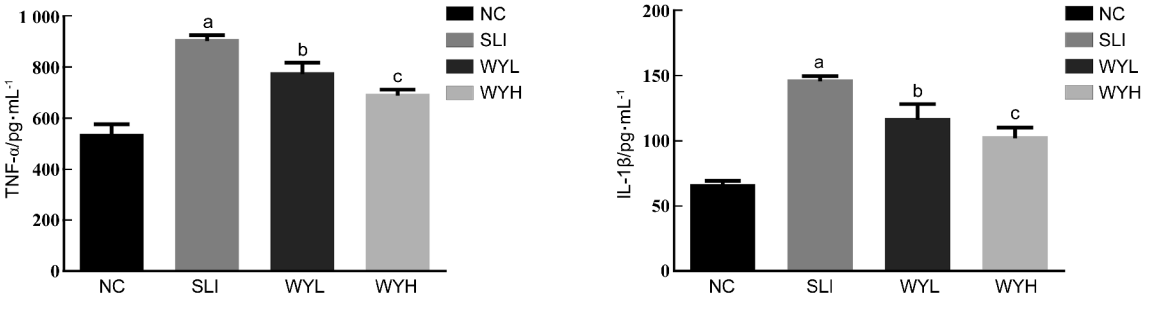


图 10 大鼠肝脏组织形态学变化(HE 染色, ×200)

12 WY14643 可减轻慢性应激导致的炎症反应

如图 11 所示,与对照组相比,模型组的 TNF-α ($P<0.001$)和 IL-1β ($P<0.001$)水平显著上升,而 WY14643 干预后,TNF-α 和 IL-1β 明显下降且呈剂量依赖性。这说明 WY14643 可减轻慢性应激所致的炎症反应。

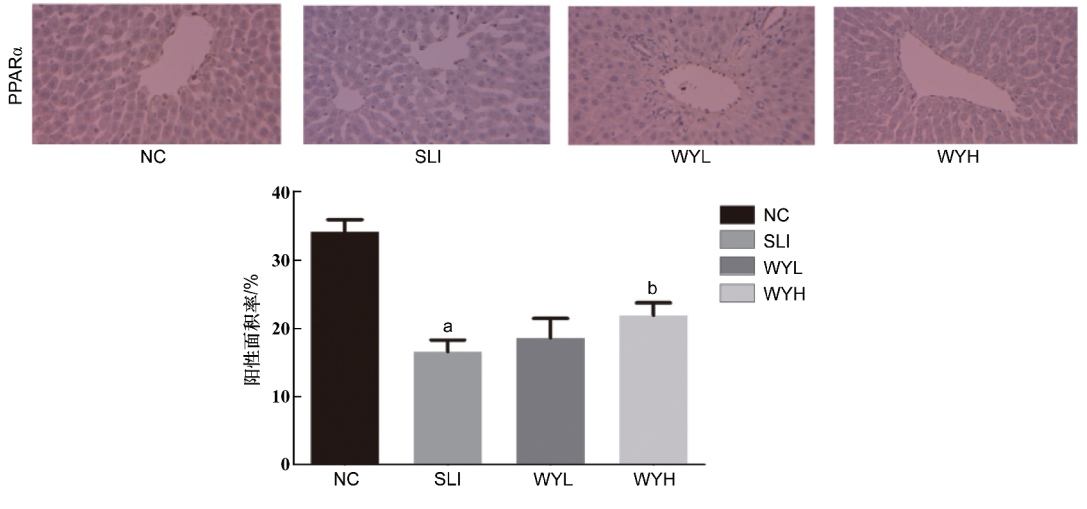


与对照组相比,a:$P<0.001$;与模型组相比,b:$P<0.01$,c:$P<0.001$

图 11 大鼠血清 TNF-α,IL-1β 水平变化($n=3$)

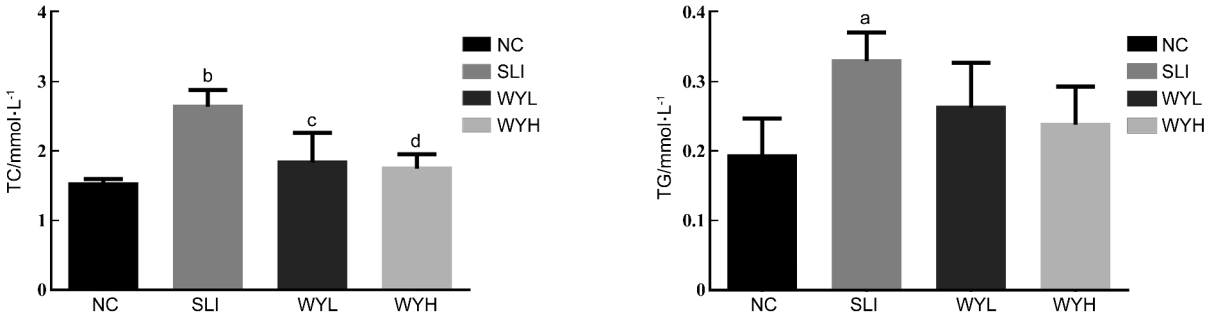
13 WY14643 可减轻慢性应激导致的脂质堆积

如图 12 所示,与对照组相比,模型组 PPARα 水平显著降低($P<0.001$),而 WY14643 给药组 PPARα 水平有所上升,且呈剂量依赖性。如图 13 所示,与对照组相比,模型组的 TC ($P<0.001$)和 TG ($P<0.05$)水平显著上升,而 WY14643 干预后,TC 和 TG 有所下降且呈剂量依赖性。以上结果表明 WY14643 可减轻慢性应激所致的脂质堆积。



与对照组相比,a:$P<0.001$;与模型组相比,b:$P<0.05$

图 12 大鼠肝脏 PPARα 免疫组化(×200)及量化统计结果

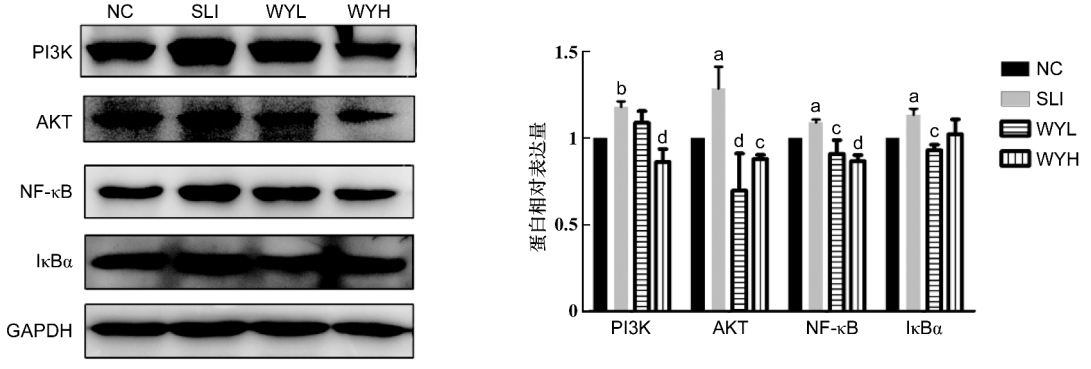


与对照组相比，a：$P<0.05$，b：$P<0.001$；与模型组相比，c：$P<0.05$，d：$P<0.01$

图 13 大鼠血清 TC，TG 含量变化（$n=3$）

14 WY14643 通过 PI3K/AKT/NF-κB 信号通路发挥抗应激保护作用

如图 14 所示，水浸束缚应激增加大鼠肝脏组织中 PI3K，AKT，NF-κB 和 IκBα 蛋白的表达，而低、高剂量的 WY14643 干预后，PI3K，AKT，NF-κB 和 IκBα 蛋白相比模型组下调，提示 WY14643 可通过抑制 PI3K/AKT/NF-κB 信号通路，减少应激性肝损伤中的炎症反应。



与对照组相比，a：$P<0.05$，b：$P<0.01$；与模型组相比，c：$P<0.01$，d：$P<0.001$

图 14 大鼠肝脏组织 PI3K，AKT，NF-κB 和 IκBα 蛋白表达水平

讨　论

应激反应通常通过激活下丘脑-垂体-肾上腺轴和交感神经系统，促进皮质酮和肾上腺素持续大量释放[6]，引起氧化应激，继而引起肝损伤[7]。本研究采用水浸束缚法成功建立大鼠应激性肝损伤模型，表现为体重增长减缓、精神萎靡、反应迟钝，血清 CORT，ALT 和 AST 水平增加。ALT 和 AST 的活性是肝损伤有效的定量指标[8]。AST 和 ALT 通常在肝细胞中表达。然而，在肝损伤下，ALT 和 AST 释放到循环中会导致血清中这些酶活性的增加。因此，血清中这些酶活性的升高被认为是肝损伤的可靠和特异性标志物[9]。

PPAR 是核转录因子超家族的成员。它们参与介导人类的多种生理作用，包括葡萄糖和脂质代谢。PPARα 是由配体激活的转录调节因子，参与炎症反应、凋亡和脂质代谢[10]。WY14643 是一种选择性 PPARα 激动剂，具有神经保护作用[11]、心肌保护作用[12]和抗抑郁[13]等作用，但其抗应激性肝损伤的作用尚不十分清楚。本研究发现，水浸束缚应激后，大鼠血清 CORT，ALT，AST，TNF-α 和 IL-1β 含量显著增加，说明大鼠处于应激状态，产生了炎症反应，并且肝功能出现异常，而经 WY14643 干预后，血清 CORT，ALT，AST，TNF-α 和 IL-1β 水平显著下降，提示 WY14643 具有抗应激性肝损伤作用。与对照组相比，水浸束缚应激小鼠 TC 和 TG 水平显著升高，而 WY14643 给药组大鼠肝脏 TC 和 TG 水平显著下降，表明 WY14643 可减轻水浸束缚应激导致的脂质堆积。

通过 Western Blot 实验发现，水浸束缚应激会

导致 PI3K, AKT, NF-κB 和 IκBα 蛋白表达上调，WY14643 处理后，PI3K, AKT, NF-κB 和 IκBα 蛋白表达减少，提示 WY14643 的抗应激性肝损伤作用可能与抑制 PI3K/AKT/NF-κB 信号通路有关。

综上所述，WY14643 对水浸束缚应激诱发的大鼠应激性肝损伤具有一定的保护作用，其作用可能与抑制 PI3K/AKT/NF-κB 信号通路，减轻水浸束缚应激状态下的炎症反应有关。

[参 考 文 献]

[1] KIM JS, HAN SY, IREMONGER KJ. Stress experience and hormone feedback tune distinct components of hypothalamic CRH neuron activity[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5696.

[2] DAI SR, MO YZ, WANG YM, *et al*. Chronic stress promotes cancer development[J]. *Front Oncol*, 2020, 10(5): 1492.

[3] RUSSELL G, LIGHTMAN S. The human stress response[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(9): 525 - 534.

[4] JOUNG JY, CHO JH, KIM YH, *et al*. A literature review for the mechanisms of stress-induced liver injury[J]. *Brain Behav*, 2019, 9(3): e01235.

[5] POLLINGER J, MERK D. Therapeutic applications of the versatile fatty acid mimetic WY14643[J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2017, 27(4): 517 - 525.

[6] KIM HG, KIM YH, LEE SB, *et al*. An herbal formula CG^{plus} ameliorates stress-induced hepatic injury in a BALB/c mouse model [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11(5): 447.

[7] KIM SH, OH DS, OH JY, *et al*. Silymarin prevents restraint stress-induced acute liver injury by ameliorating oxidative stress and reducing inflammatory response[J]. *Molecules*, 2016, 21(4): 443.

[8] JIA HM, YU M, MA LY, *et al*. Chaihu-Shu-Gan-San regulates phospholipids and bile acid metabolism against hepatic injury induced by chronic unpredictable stress in rat[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2017, 1064(8): 14 - 21.

[9] CHENG K, YAN EF, SONG ZH, *et al*. Protective effect of resveratrol against hepatic damage induced by heat stress in a rat model is associated with the regulation of oxidative stress and inflammation[J]. *J Therm Biol*, 2019, 82(3): 70 - 75.

[10] 焦明静，周莉，任锋，等. 过氧化物酶体增殖物激活受体 α 抗炎作用的细胞与分子机制研究[J]. 中华肝脏病杂志，2016, 24(12): 916 - 920.

[11] XU H, YOU ZC, WU ZH, *et al*. WY14643 attenuates the scopolamine-induced memory impairments in mice[J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(11): 2868 - 2879.

[12] YAN J, SONG K, BAI ZZ, *et al*. WY14643 improves left ventricular myocardial mitochondrial and systolic functions in obese rats under chronic persistent hypoxia via the PPARα pathway [J]. *Life Sci*, 2021, 266(2): 118888.

[13] YANG RR, WANG P, CHEN Z, *et al*. WY-14643, a selective agonist of peroxisome proliferator-activated receptor-α, ameliorates lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviors by preventing neuroinflammation and oxido-nitrosative stress in mice [J]. *Pharm Biochem Behav*, 2017, 153(2): 97 - 104.

编辑：刘卓越/接受日期：2021 - 02 - 01