

金丝桃苷对免疫性肝损伤小鼠的保护作用

黄凯¹, 耿森², 王建华², 黄正明³, 杨新波², 陈红艳^{2*}

(1. 南京医科大学附属无锡市人民医院, 江苏无锡 214013;

2. 解放军总医院老年医学研究所, 北京 100853; 3. 解放军302医院, 北京 100039)

[摘要] **目的:**观察金丝桃苷(Hyp)对刀豆蛋白A(Con A)诱导免疫性肝损伤小鼠的保护作用,并探讨其作用机制。**方法:**昆明种小鼠随机分为6组,分别为正常组,模型组,金丝桃苷低、中、高剂量(12.5,25,50 mg·kg⁻¹)组和联苯双酯(200 mg·kg⁻¹)组。给药组连续ig给药10 d,末次给药后1 h,除正常组外,其余各组均尾静脉注射Con A(20 mg·kg⁻¹)造模,造模12 h后,检测血清天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性;肝脏组织中丙二醛(MDA)的含量和超氧化物歧化酶(SOD)的活性;血清白细胞介素-2(IL-2),白细胞介素-4(IL-4),干扰素-γ(IFN-γ)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的水平,血中CD3⁺,CD4⁺和CD8⁺含量;并通过HE染色观察肝脏组织的病理学变化。**结果:**与正常组比较,模型组小鼠血清ALT,AST活性及肝脏组织MDA含量明显升高,肝脏组织SOD活性明显降低,IL-2,IL-4,IFN-γ和TNF-α水平明显升高,CD3⁺,CD4⁺和CD8⁺含量明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,Hyp明显降低免疫性肝损伤小鼠血清ALT和AST活性,降低肝脏组织MDA含量,升高SOD活性,同时明显降低IL-2,IL-4,IFN-γ和TNF-α水平,明显升高CD3⁺,CD4⁺和CD8⁺含量($P < 0.05$, $P < 0.01$);肝脏病理学检测显示,模型组肝脏组织病理损伤明显,Hyp能明显减轻Con A对肝脏组织的病理损伤。**结论:**Hyp对小鼠免疫性肝损伤具有一定的保护作用,其机制可能与清除自由基、减少炎症因子释放、调节T细胞亚群平衡有关。

[关键词] 金丝桃苷; 免疫性肝损伤; 刀豆蛋白A; 炎症因子; T细胞亚群

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)19-0137-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015190137

Protective Effect of Hyperin on Immunological Liver Injury in Mice HUANG Kai¹, GEN Miao², WANG Jian-hua², HUANG Zheng-ming³, YANG Xin-bo², CHEN Hong-yan^{2*} (1. *Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214013, China*; 2. *Institute of Geriatrics, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China*; 3. *The 302th Hospital of PLA, Beijing 100039, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect of hyperin (Hyp) on concanavalin A (Con A) -induced immunological liver injury in mice, and to explore its mechanism. **Method:** Kunming mice were randomly divided into six groups: the normal group, the model group, the low-, middle-, high-dose Hyp groups (12.5, 25, 50 mg·kg⁻¹) and the bifendate group (200 mg·kg⁻¹). The mice in he treated groups were orally administered with hyperin or bifendate for 10 consecutive days. The mice were injected with 20 mg·kg⁻¹ of Con A intravenously except the control 1 hour after the last medication. 12 hours later, the activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in serum, the concentrations of superoxide dismutase (SOD) and methane dicarboxylic aldehyde (MDA) in hepatic tissue, the levels of interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interferon-γ (IFN-γ) and tumor necrosisfactor-α (TNF-α), CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ in blood were determined. In addition, hepatic histopathological examination was also performed. **Result:** Compared with the normal group, the serum AST and ALT activities, the level of MDA, IL-2, IL-4, IFN-γ and TNF-α increased, the SOD, T lymphocyte subset CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ ratios in hepatic tissue decreased in the model group ($P < 0.01$). Compared with model group, the serum AST and ALT activities, the level of MDA, IL-2, IL-4, IFN-γ and TNF-α were reduced, the SOD, T lymphocyte subset CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ ratios in hepatic tissue were elevated in the model group ($P < 0.01$). Moreover, the pathological injuries of liver tissue

[收稿日期] 20141117(010)

[第一作者] 黄凯,博士,助理研究员,主要从事肝脏药理和药代动力学研究,Tel:0510-85350347,E-mail:hk19820627@sina.com

[通讯作者] * 陈红艳,主管技师,主要从事中药药理的研究,Tel:010-66876422,E-mail:hongychen@sina.com

were alleviated. **Conclusion:** Hyp has a potent protective effect against Con A-induced immunological liver injury in mice. The mechanism might be related to removing free radicals, regulating the balance of T cell subgroup and reducing the secretion of inflammation factors.

[Key words] hyperin; immunological liver injury; concanavalin A; inflammation factor; T cell subgroup

金丝桃苷(hyperin, Hyp), 又名槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃半乳糖苷, 是一种天然的黄酮醇苷类化合物, 存在于金丝桃科、蔷薇科、桔梗科、唇形科、小檗科、杜鹃花科、葵科等植物的果实及全草中^[1], 具有保护心血管^[2]、抗氧化^[3]、抗炎^[4]、抗病毒^[5]、抗肿瘤^[6]、免疫调节^[7]等药理作用。目前研究表明, 金丝桃苷一方面通过抗氧化和膜稳定作用, 另一方面通过抑制肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 诱导型一氧化氮合酶(iNOS), 环氧合酶-2 (COX-2) 的 mRNA 水平及蛋白表达, 增强血红素加氧酶-1 (HO-1) 的 mRNA 水平和蛋白表达以及核因子 E₂ 相关因子 2 (Nrf2) 的核蛋白表达, 从而保护 CCl₄ 诱导的化学性肝损伤^[8-9]。但金丝桃苷对于免疫功能紊乱造成的免疫性肝损伤是否也具有保护作用未见相关报道, 因此, 本研究以刀豆蛋白 A (concanavalin A, Con A) 诱导急性免疫性肝损伤小鼠为模型, 观察金丝桃苷对其保护作用并进行初步的机制探讨, 为临床治疗急性免疫性肝损伤提供理论和实验依据。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠, 雄性, 18 ~ 22 g, 中国医学科学院动物研究所繁育场提供。动物合格证号 SCXK(京)2004-0001。

1.2 药物及试剂 金丝桃苷(Hyp)从锦葵科秋葵属植物黄蜀葵的花中提取分离而得, 纯度 95.0%, 由解放军 302 医院药学部提供, 联苯双酯(北京协和药厂, 批号 08010106), Con A(美国 Sigma 公司, 批号 C2010), 丙氨酸氨基转移酶检测试剂盒(ALT, 批号 110308010), 天冬氨酸氨基转移酶检测试剂盒(AST, 批号 110308010)均购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, 超氧化物歧化酶检测试剂盒(SOD, 批号 20091127), 丙二醛检测试剂盒(MDA, 批号 20091127), 考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒(批号 20090916)均购自南京建成生物工程研究所, 白细胞介素-2(IL-2)ELISA 试剂盒(批号 E2020-08-01), IL-4 ELISA 试剂盒(批号 E2040-08-02), γ -干扰素(IFN- γ) ELISA 试剂盒(批号 E2720-08-02), TNF- α ELISA 试剂盒(批号 E2000-07-03)均购自深圳达科为生物科技有限公司, Percp-CD3⁺(批号 B114042),

FITC-CD4⁺(批号 B115748), PE-CD8⁺(批号 B116538)均购自美国 Biolegend 公司。

1.3 仪器 CK2 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司), 22R 型高速冷冻离心机(德国 Heraeus 公司), ER-182 型电子分析天平(日本 A&G 有限公司), Sunrise 型全自动酶标测试仪(澳大利亚 Tecan 公司), BS-120 型全自动生化分析仪(迈瑞生物医疗电子股份有限公司), FACSCalibur 型流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司)。

2 方法

2.1 小鼠急性免疫性肝损伤模型的建立及给药方法 小鼠 48 只, 适应性喂养 3 d 后, 随机分为 6 组, 分别为正常组, 模型组, 金丝桃苷低、中、高剂量(12.5, 25, 50 mg·kg⁻¹)组和联苯双酯(200 mg·kg⁻¹)组, 每组 8 只。每日 8:00 ~ 9:00 *ig* 给予相应的药物, 正常组和模型组分别给予等体积的生理盐水, 每天 1 次, 连续给药 10 d 后, 除正常组尾静脉注射生理盐水外, 其余各组均尾静脉注射 Con A(20 mg·kg⁻¹)造模。禁食 12 h 后, 自小鼠后眼眶静脉丛采血, 颈椎脱臼处死小鼠, 取肝左叶组织, 10% 福尔马林溶液中固定, 剩余肝脏置于 -80 °C 冰箱备用。

2.2 肝组织病理学观察 将 10% 福尔马林固定肝脏组织脱水, 石蜡包埋、切片, 常规苏木素伊红(HE)染色, 光镜下观察病理组织学变化。

2.3 血清 AST 和 ALT 活性测定 采用全自动生化分析仪检测血清 AST 和 ALT 活性, 按照试剂盒说明书进行测定。

2.4 肝脏组织 MDA 含量和 SOD 活性测定 取 0.2 g 肝组织置于冰浴中, 用 1.8 mL 冷生理盐水制成 10% 肝匀浆, 考马斯亮蓝法测定蛋白浓度, 并按照试剂盒说明书测定 MDA 含量和 SOD 活性。

2.5 血清 IL-2, IL-4, IFN- γ 和 TNF- α 水平测定 采用 ELISA 法分别检测血清 IL-2, IL-4, IFN- γ 和 TNF- α , 具体步骤按照试剂盒说明书进行。

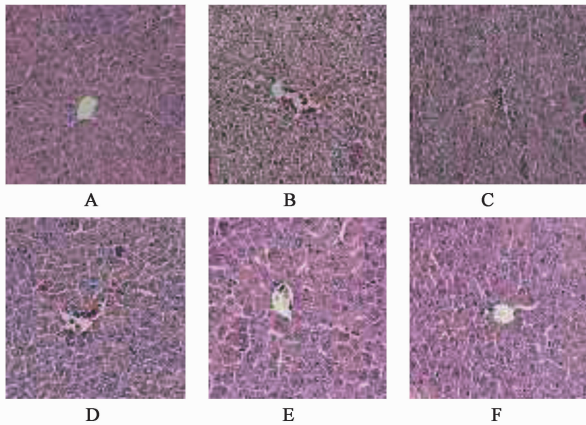
2.6 血中 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺, CD4⁺ 和 CD8⁺)含量测定 取 100 μ L 抗凝血, 加入 1.3 μ L Percp-CD3⁺, 0.5 μ L FITC-CD4⁺ 和 1.3 μ L PE-CD8⁺, 室温下避光孵育 30 min, 加入 10% 溶血素 2 mL 溶解红

细胞,室温下避光孵育 15 min,1 500 r·min⁻¹离心 5 min,弃上清,沉淀用 PBS 洗细胞 1 次,1 500 r·min⁻¹离心 5 min,弃上清,加入 300 μL PBS,入流式细胞仪进行检测。另取 3 管 100 μL 正常小鼠抗凝血,分别加入 1.3 μL Percp-CD3⁺,0.5 μL FITC-CD4⁺和 1.3 μL PE-CD8⁺作为正常。每份标本检测 15 000 个淋巴细胞,采用 CELLQuest 软件分析结果。

2.7 统计学分析 采用 DAS 2.0 统计软件进行统计学分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,方差不齐采用 *t'* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对免疫性小鼠肝损伤病理变化的影响 光镜下可见正常组小鼠肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝小叶结构完整,肝细胞大小正常,无变性和坏死,间质无炎症细胞浸润,肝窦未见异常;模型组肝小叶内大多数肝细胞肿胀,细胞质疏松化,呈气球样变,明显的点状坏死和灶性坏死,坏死灶内有大量炎症细胞浸润,肝窦内红细胞堆集,金丝桃苷各用药组肝脏组织内可见散在点状坏死和灶性坏死,肝细胞损伤程度明显低于模型组,炎症细胞浸润显著减少,且高剂量组肝细胞损伤程度轻于低、中剂量组。见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C. Hyp 12.5 mg·kg⁻¹组;D. Hyp 25 mg·kg⁻¹组;E. Hyp 50 mg·kg⁻¹组;F. 联苯双酯 200 mg·kg⁻¹组

图 1 金丝桃苷对小鼠急性免疫性肝损伤病理变化的影响(HE, × 200)

Fig. 1 Effects of Hyp on pathological change of acute immunological liver injury in mice (HE, × 200)

3.2 对免疫性肝损伤小鼠血清 AST 和 ALT 的影响 与正常组比较,模型组血清中 AST 和 ALT 活性明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,Hyp(25,50 mg·kg⁻¹)组 AST 和 ALT 活性明显降低($P < 0.05$,

$P < 0.01$)。见表 1。

表 1 Hyp 对免疫性肝损伤小鼠血清 AST 和 ALT 的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 1 Effects of Hyp on AST, ALT in serum of immunological liver injury mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	AST /U·L ⁻¹	ALT /U·L ⁻¹
正常	-	108.83 ± 12.82	20.78 ± 3.60
模型	-	329.24 ± 29.33 ²⁾	176.13 ± 53.28 ²⁾
金丝桃苷	12.5	315.16 ± 37.38	134.41 ± 40.81
	25	291.43 ± 29.42 ³⁾	124.10 ± 24.75 ³⁾
	50	246.19 ± 38.56 ⁴⁾	88.87 ± 22.94 ⁴⁾
联苯双酯	200	260.48 ± 27.97 ⁴⁾	97.08 ± 28.43 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.3 对免疫性肝损伤小鼠肝脏组织 SOD 和 MDA 的影响 与正常组比较,模型组小鼠肝匀浆中 MDA 的含量显著上升,而 SOD 活性显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,Hyp(25,50 mg·kg⁻¹)能显著降低模型小鼠肝匀浆中 MDA 的含量,升高 SOD 活性($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 Hyp 对免疫性肝损伤小鼠肝脏组织 SOD 和 MDA 的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 2 Effects of Hyp on SOD, MDA in liver of immunological liver injury mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹	MDA/μmol·g ⁻¹
正常	-	567.46 ± 93.48	5.65 ± 0.71
模型	-	436.07 ± 76.01 ²⁾	9.88 ± 2.12 ²⁾
金丝桃苷	12.5	431.78 ± 113.12	9.06 ± 1.43
	25	515.89 ± 65.95 ³⁾	7.69 ± 1.73 ³⁾
	50	523.51 ± 82.74 ³⁾	7.36 ± 1.81 ³⁾
联苯双酯	200	541.76 ± 67.72 ⁴⁾	6.97 ± 1.64 ⁴⁾

3.4 对免疫性肝损伤小鼠血清 IL-2, IL-4, IFN-γ 和 TNF-α 水平的影响 与正常组比较,模型组血清中 IL-2, IL-4, IFN-γ 和 TNF-α 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,Hyp 除 12.5 mg·kg⁻¹组 TNF-α 无统计学意义外,其余各组 IL-2, IL-4, IFN-γ 和 TNF-α 均明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 3。

3.5 对免疫性肝损伤小鼠 CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ 的影响 与正常组比较,模型组 CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ 均下降,CD4⁺/CD8⁺ 明显上升($P < 0.01$);与模型组比较,除 Hyp(12.5 mg·kg⁻¹)组 CD4⁺外,其余各组 CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ 均有不同程度升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),其比值有所下降。见表 4。

表 3 Hyp 对免疫性肝损伤小鼠血清 IL-2, IL-4, IFN- γ 和 TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effects of Hyp on IL-2, IL-4, IFN- γ , TNF- α in serum of immunological liver injury mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	IL-2/ng·L ⁻¹	IL-4/ng·L ⁻¹	IFN- γ /ng·L ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹
正常	-	2.11 \pm 0.72	10.14 \pm 3.12	15.01 \pm 4.72	25.96 \pm 6.80
模型	-	13.12 \pm 4.91 ²⁾	53.91 \pm 12.00 ²⁾	296.73 \pm 68.84 ²⁾	187.74 \pm 35.12 ²⁾
金丝桃苷	12.5	8.64 \pm 2.82 ³⁾	38.72 \pm 8.81 ³⁾	220.41 \pm 57.12 ³⁾	169.01 \pm 30.42
	25	6.53 \pm 2.52 ⁴⁾	25.26 \pm 7.21 ⁴⁾	125.22 \pm 34.63 ⁴⁾	109.47 \pm 35.21 ⁴⁾
	50	3.36 \pm 0.91 ⁴⁾	14.82 \pm 4.64 ⁴⁾	54.82 \pm 15.31 ⁴⁾	52.94 \pm 13.92 ⁴⁾
联苯双酯	200	4.24 \pm 1.42 ⁴⁾	15.23 \pm 4.22 ⁴⁾	156.91 \pm 39.52 ⁴⁾	68.52 \pm 18.44 ⁴⁾

表 4 Hyp 对免疫性肝损伤小鼠血中 CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effects of Hyp on CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ in blood of immunological liver injury mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	CD3 ⁺ /%	CD4 ⁺ /%	CD8 ⁺ /%	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
正常	-	55.88 \pm 9.38	49.96 \pm 5.35	19.48 \pm 3.88	2.61 \pm 0.38
模型	-	17.91 \pm 4.13 ²⁾	16.21 \pm 2.63 ²⁾	3.05 \pm 0.81 ²⁾	5.64 \pm 1.73 ²⁾
金丝桃苷	12.5	25.18 \pm 4.53 ³⁾	19.40 \pm 4.74	5.39 \pm 1.24 ⁴⁾	3.72 \pm 1.14 ³⁾
	25	26.73 \pm 5.79 ³⁾	22.45 \pm 4.13 ⁴⁾	5.78 \pm 1.69 ⁴⁾	3.80 \pm 1.00 ³⁾
	50	29.87 \pm 6.26 ⁴⁾	23.78 \pm 4.75 ⁴⁾	6.21 \pm 1.27 ⁴⁾	4.00 \pm 1.31 ³⁾
联苯双酯	200	34.56 \pm 6.02 ⁴⁾	27.08 \pm 5.45 ⁴⁾	6.52 \pm 1.53 ⁴⁾	4.88 \pm 0.66

4 讨论

Con A 是一种对肝细胞有特异性毒性作用的植物凝集素,可活化 T 淋巴细胞产生细胞毒性作用而导致肝损伤,而 Con A 诱导的肝细胞损伤过程,与人类急性免疫性肝损伤(如人类急性病毒性肝炎)的病理过程相似^[10]。因此,本实验通过 ConA 诱导小鼠免疫性肝损伤模型来研究 Hyp 对免疫性肝损伤的保护作用。

研究结果发现,小鼠经尾静脉注射 Con A 12 h 后,血清中 ALT 和 AST 水平均明显升高,且肝脏存在明显的病理学改变,表明 Con A 可导致小鼠肝脏结构和功能损伤,并提示小鼠免疫性肝损伤造模成功,该结果与文献报道相一致^[11]。而 Hyp 能明显降低肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 水平,减轻肝脏炎症细胞浸润和坏死程度,提示 Hyp 对免疫性肝损伤小鼠具有一定的保护作用。

脂质过氧化在免疫性肝损伤的发生发展过程中起到十分重要的作用。MDA 是脂质过氧化的最终产物,其含量与脂质过氧化程度呈正相关性;SOD 活性的高低反映机体清除氧自由基的能力^[12]。实验结果显示,Hyp 可明显降低免疫性肝损伤小鼠 MDA 水平,升高 SOD 活性,表明 Hyp 可能是通过清除自由基,增强机体抗脂质过氧化能力而减轻肝细胞损害。

此外,致肝损伤剂量的 ConA 能激活淋巴细胞

释放多种炎症因子,如 TNF- α , IFN- γ , IL-4 和 IL-2 等^[11,13]。TNF- α 主要由巨噬细胞产生,可以直接诱导细胞凋亡,还可以与 IFN- γ 共同作用,增加内皮细胞黏附分子的表达,增强炎症细胞浸润,介导肝损伤^[14]。IFN- γ 在炎症反应中还可诱导巨噬细胞释放 TNF- α ,增加肝细胞对 TNF- α 的敏感性;上调内皮细胞的黏附分子和化学趋化因子的表达,促进白细胞黏附、渗出和增强淋巴细胞和中性粒细胞的浸润能力,从而扩大炎症反应^[15-16]。IL-4 在 Con A 诱导的肝损伤模型中也发挥了重要作用,当注射 Con A 后,NKT 细胞分泌的 IL-4 增多,又可以进一步增加 NKT 细胞对肝脏细胞的毒性作用。而 NKT 细胞的颗粒酶 B 和凋亡配体 FasL 表达升高,也可能是导致肝损伤的一个重要因素^[17]。IL-2 等细胞炎症因子可以激活 kupffer 细胞诱导 TNF- α 等其他炎症因子的产生,还可以通过死亡配体和受体的相互作用诱导肝细胞的凋亡和坏死^[18]。本实验结果发现,模型组小鼠血清 IL-2, IFN- γ , IL-4 和 TNF- α 水平明显增高,当给予 Hyp 治疗后,血清中 IL-2, IFN- γ , IL-4 和 TNF- α 水平不同程度的降低,尤以中、高剂量组显著,表明 Hyp 减轻 Con A 所引起的肝脏炎症损伤,可能与其抑制炎症因子释放有关。

CD3⁺ 细胞包括外周成熟 T 细胞,反映细胞免疫的总体水平。成熟的 T 细胞根据表面分子表达的不同,分为 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞亚群,二者在

体内维持一定的比例,其比值是评价细胞免疫功能的重要指标,当比值下降或升高时均表明机体细胞免疫功能紊乱^[19]。本研究结果显示模型组 CD4⁺/CD8⁺上升,外周 CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T 淋巴细胞比率均降低,提示小鼠机体细胞免疫功能严重紊乱,总体细胞免疫水平降低,其可能与免疫损伤过程中淋巴细胞消耗较多或向肝内转移有关^[19],确切机制有待于进一步研究。当给予 Hyp 治疗后,外周血 CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ 细胞比率均上升,尤以中、高剂量组显著,且 CD4⁺/CD8⁺ 向正常值接近,上述结果提示 Hyp 保护小鼠肝损伤的机制可能与通过调节 T 细胞亚群的平衡有关。

综上所述, Hyp 可保护 Con A 致小鼠免疫性肝损伤,其机制可能与清除自由基、抑制炎症因子释放、调节 T 细胞亚群的平衡有关。

[参考文献]

[1] Ku S K, Kwak S, Kwon O J, et al. Hyperoside inhibits high-glucose-induced vascular inflammation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Inflammation*, 2014, 37(5):1389-1400.

[2] Wang W Q, Ma C G, Xu S Y. Protective effect of hyperin against myocardial ischemia and reperfusion injury [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 1996, 17(4):341-344.

[3] Li Z L, Hu J, Li Y L, et al. The effect of hyperoside on the functional recovery of the ischemic/reperfused isolated rat heart: potential involvement of the extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 57:132.

[4] Lee S, Jung S H, Lee Y S, et al. Anti-inflammatory activity of hyperin from *Acantho-panax chiisanensis* roots [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27(6):628-632.

[5] Wu L L, Yang X B, Huang Z M, et al. *In vivo* and *in vitro* antiviral activity of hyperoside extracted from *Abelmoschus manihot* (L) medik [J]. *Acta Phazmacol Sin*, 2007, 28(1):404-409.

[6] Yang F Q, Liu M, Li W, et al. Combination of quercetin and hyperoside inhibits prostate cancer cell growth and metastasis via regulation of microRNA21 [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10:1085-1092.

[7] 黄凯, 杨新波, 黄正明, 等. 金丝桃苷对正常小鼠免疫调节作用[J]. *解放军药理学学报*, 2009, 25(2):

133-135.

[8] 黄明春, 陈剑鸿, 胡小刚, 等. 金丝桃苷对 CCl₄ 诱导大鼠急性肝损伤抗氧化应激研究[J]. *局解手术学杂志*, 2013, 22(6):588-591.

[9] 林萍, 易宏伟, 张斐. 金丝桃苷药理作用研究进展 [J]. *中国现代中药*, 2012, 14(10):23-26.

[10] Kubo N, Narumi S, Kijima H, et al. Efficacy of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for fulminant hepatitis in mice induced by concanavalin A [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 27(1):165-172.

[11] Wang H, Hu B, Zou Y, et al. Dexmedetomidine premedication attenuates concanavalin A-induced hepatitis in mice [J]. *J Toxicol Sci*, 2014, 39(5):755-766.

[12] 汪永忠, 姜辉, 张家富, 等. 三七总皂苷对免疫性肝损伤小鼠的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(7):159-162.

[13] 李常青, 刘丽丽, 朱宇同, 等. 中药清肝排毒饮对刀豆蛋白 A 所致小鼠免疫性肝损伤的保护作用[J]. *世界华人消化杂志*, 2005, 13(11):1283-1286.

[14] 沈明, 林浩杰. 乙型慢性活动性肝炎患者外周血淋巴细胞亚群白细胞介素-2 受体的初探[J]. *医学检验与临床*, 2007, 18(6):37-39.

[15] Trautwein C, Rakemann T, Brenner D A, et al. Concanavalin A induced liver cell damage: activation of intracellular pathway striggered by tumor necrosis factor in mice [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(5):1035-1045.

[16] Zhou M, Zhu X, Ye S, et al. Blocking TLR2 *in vivo* attenuates experimental hepatitis induced by concanavalin A in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 21(1):241-246.

[17] 胡水清, 黄依雯, 秦伟, 等. Con A 诱导小鼠肝损伤模型的发病机制[J]. *中国血液流变学杂志*, 2007, 17(1):159-163.

[18] Guilho S, Miller T, Cornman G, et al. Apoptosis induced by tumor necrosis factor-alpha in rat hepatocyte cell lines expressing hepatitis B virus [J]. *Am J Pathol*, 1996, 148(3):801-816.

[19] Qin X Y, Li T, Yan L, et al. Tanshinone II_A protects against immune-mediated liver injury through activation of T-cells subsets and regulation of cytokines [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2010, 32(1):51.

[责任编辑 周冰冰]