

基于肠 FXR-FGF15 通路探讨沙棘熊果酸对酒精性肝损伤小鼠的影响

李楠^{1,2}, 赵雪^{1,2}, 郭少龙^{1,2}, 张文龙^{3*}, 戈娜^{1,2*}, 李智¹, 林琰¹

(1. 包头医学院 公共卫生学院, 内蒙古 包头 014040; 2. 包头医学院 营养与食品健康研究所, 内蒙古 包头 014040; 3. 包头医学院第一附属医院, 内蒙古 包头 014010)

摘要: 该研究借助小鼠酒精性肝损伤模型, 观察沙棘熊果酸补充对酒精性肝损伤 (alcoholic liver disease, ALD) 小鼠的改善效果, 通过分析沙棘熊果酸对 ALD 小鼠肠法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR)-成纤维细胞生长因子 15 (fibroblast growth factor 15, FGF15) 通路的影响, 探讨其可能的保护作用机制。结果表明, 沙棘熊果酸能够改善 ALD 小鼠的肝脏、小肠组织炎症反应, 降低 ALD 小鼠血清谷草转氨酶 (aspartate transaminase, AST)、谷丙转氨酶 (glutamic-pyruvic transaminase, ALT) 活性、总胆汁酸 (total bile acids, TBA)、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、D-乳酸 (D-lactic acid, D-LA) 含量, 提高 ALD 小鼠胆盐水解酶 (bile salt hydrolase, BSH) 浓度。同时, 沙棘熊果酸可提高 ALD 小鼠肠道 FXR、FGF15、肝脏中成纤维细胞生长因子受体第 4 号 (fibroblast growth factor receptor 4, FGFR4) 蛋白表达量, 降低肝脏中胆固醇 7 α -羟化酶 (cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1) 蛋白表达。综上, 沙棘熊果酸对酒精性肝损伤小鼠具有保护作用, 其机制可能与调节肠 FXR-FGF15 通路有关。

关键词: 沙棘熊果酸; 酒精性肝损伤; 小肠; 成纤维细胞生长因子 15 (FGF15); 法尼醇 X 受体 (FXR); 胆汁酸

Effect of Ursolic Acid in *Hippophae rhamnoides* L. on Mice with Alcoholic Liver Disease Based on Intestinal FXR-FGF15 Pathway

LI Nan^{1,2}, ZHAO Xue^{1,2}, GUO Shaolong^{1,2}, ZHANG Wenlong^{3*}, GE Na^{1,2*}, LI Zhi¹, LIN Yan¹

(1. School of Public Health, Baotou Medical College, Baotou 014040, Inner Mongolia, China; 2. Institute of Nutrition and Food Health, Baotou Medical College, Baotou 014040, Inner Mongolia, China; 3. The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010, Inner Mongolia, China)

Abstract: This study employed a mouse model of alcoholic liver disease (ALD) to observe the improvement effect of ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L. supplementation on mice with ALD. By analyzing the effect of ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L. on the farnesoid X receptor-fibroblast growth factor 15 (FXR-FGF15) pathway in the intestine of ALD mice, the possible protective mechanism was explored. The results showed that ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L. could improve the inflammatory response of liver and small intestine tissue in ALD mice, reduce the activity of aspartate transaminase (AST) and glutamic-pyruvic transaminase (ALT), and decrease the content of total bile acids (TBA), lipopolysaccharide (LPS), and D-lactic acid (D-LA) in the serum of ALD mice, with the increase in bile salt hydrolase (BSH) concentration in ALD mice. Meanwhile, ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L. could increase the expression levels of intestinal FXR, FGF15, and fibroblast growth factor receptor 4 (FGFR4) proteins in ALD mice, and reduce protein expression levels of cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) in the liver. In summary, ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L. had a protective effect on ALD mice, and its mechanism might be related to the regulation of the intestinal FXR-FGF15 pathway.

Key words: ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L.; alcohol liver disease; small intestine; fibroblast growth factor 15 (FGF15); farnesoid X receptor (FXR); bile acid

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82160618); 内蒙古自治区卫生健康科技计划项目 (202201373); 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2023MS08041); 包头医学院创新团队发展计划项目 (byextd-11); 包头医学院 2023 年研究生科研创新项目 (byex2023004, byex2023007)

作者简介: 李楠 (1998—), 女 (汉), 在读硕士研究生, 研究方向: 营养与疾病。

*通信作者: 张文龙 (1978—), 男 (汉), 副主任医师, 研究方向: 骨科疾病的诊疗; 戈娜 (1980—), 女 (蒙古), 教授, 研究方向: 营养与疾病。

引文格式:

李楠,赵雪,郭少龙,等.基于肠 FXR-FGF15 通路探讨沙棘熊果酸对酒精性肝损伤小鼠的影响[J].食品研究与开发,2025,46(2):9-15.

LI Nan, ZHAO Xue, GUO Shaolong, et al. Effect of Ursolic Acid in *Hippophae rhamnoides* L. on Mice with Alcoholic Liver Disease Based on Intestinal FXR-FGF15 Pathway[J]. Food Research and Development, 2025, 46(2): 9-15.

长期大量饮酒可使全身多脏器的正常功能受到破坏,肝脏作为酒精代谢主要场所,可因长期大量饮酒导致酒精性肝病,也称为酒精性肝损伤^[1]。研究表明,1990~2019年,中国酒精性肝病全人群粗发病率已经由3.2/10万增长至4.9/10万,标化发病率总体呈上升趋势,其中男性标化发病率增长了7.8%^[2]。因此,寻找能够安全有效防治酒精性肝损伤的功能成分成为重点。

法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)是核受体超家族的一名成员,在肝脏以及肠道内高度表达。在肝脏中,胆汁酸过多可激活肝 FXR,抑制胆汁酸合成酶[胆固醇 7 α -羟化酶(cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1)]的转录,减少肝脏中胆汁酸的合成,维持胆汁酸稳态;在肠道中,胆汁酸可激活肠 FXR,诱导成纤维细胞生长因子 15(fibroblast growth factor 15, FGF15)表达,通过门静脉进入肝脏与成纤维细胞生长因子受体第 4 号(fibroblast growth factor receptor 4, FGFR4)结合,抑制 CYP7A1 的转录,进而抑制胆汁酸合成^[3]。目前研究显示,FXR 在酒精性肝损伤发生发展中起重要作用^[4]。Xue 等^[5]通过研究发现,酒精摄入可使 FXR 表达降低,谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)水平显著增高,肝脏出现明显病变。Kong 等^[6]通过 FXR 基因敲除(*FXR*^{-/-})小鼠研究发现,酒精摄入能够使 *FXR*^{-/-}小鼠 ALT、AST、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)进一步升高,肝脏脂肪变性更加明显,病变更为严重。因此,FXR 通路有望成为防治酒精性肝损伤的一个新靶点。

近年来,对酒精性肝损伤的保护作用研究可见于多糖、黄酮类等存在于植物(如葛根、甘草、枸杞等药食同源植物)中的活性成分,其毒副作用小,可通过抗氧化、抗炎、调节肠道菌群等方式改善酒精性肝损伤^[7]。沙棘作为药食同源植物,又名醋柳、黑刺等,其富含的黄酮类、萜类化合物等活性成分,具有抗氧化、抗炎、抗菌、保肝等作用^[8]。研究显示,沙棘果实中熊果酸含量可达0.411%^[9]。熊果酸是一种五环三萜羧酸类化合物,能够改善肠道菌群,减轻肝纤维化^[10]。有研究发现,熊果酸可激活 FXR 通路,能够增加 HepG2 细胞中的 FXR mRNA 和蛋白表达^[11-12]。前期研究发现,沙棘熊果酸可以通过抑制炎症因子释放、调控 Toll 样受

体 4 通路等方式改善酒精性肝损伤^[13],但关于熊果酸是否能够通过调节 FXR 通路改善酒精性肝损伤的研究鲜见。

本研究通过建立酒精性肝损伤小鼠模型,选用双歧杆菌四联活菌片作为阳性干预组,从肠 FXR-FGF15 通路视角,探讨沙棘熊果酸拮抗酒精性肝损伤中的作用及其可能机制,以期沙棘熊果酸在酒精性肝损伤的防治研究中提供参考,为沙棘熊果酸的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

沙棘果于内蒙古呼和浩特市和林县境内野生沙棘林采取,由内蒙古农业大学鉴定。沙棘熊果酸经由内蒙古科技大学分离、纯化及鉴定,分子式为 C₃₀H₄₈O₃,相对分子质量为 456.68,含量 93.8%。

10 周龄雄性 C57BL/6 小鼠:斯贝福(北京)生物技术有限公司,24 只,体质量 23~25 g,许可证号为 SCXK(京)2019-0010。

双歧杆菌四联活菌片:杭州远大生物制药有限公司;ALT、AST 检测试剂盒:北京索莱宝科技有限公司;总胆汁酸(total bile acids, TBA)检测试剂盒:南京建成生物工程研究所;胆盐水解酶(bile salt hydrolase, BSH)检测试剂盒、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)检测试剂盒:泉州市九邦生物科技有限公司;D-乳酸(D-lactic acid, D-LA)检测试剂盒:江苏酶免实业有限公司;电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)试剂、山羊抗兔二抗、山羊抗鼠二抗:北京中杉金桥生物技术有限公司;聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜:美国 Millipore 公司;抗 FXR、FGFR4 抗体:武汉三鹰生物技术有限公司;抗 FGF15 抗体:美国 ABCAM 公司;抗 CYP7A1 抗体:美国 Affinity 公司。

1.2 仪器与设备

TDZ4-WS 自动平衡台式离心机:湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;Synergy HT/SIAFRTI 酶标仪:美国伯腾仪器有限公司;WSE-4040 半干转膜仪系统:日本 ATTO 公司;DYCZ-24DN 电泳仪:北京六一生物技术有限公司;ChemiDoc 超高灵敏度免染型化学发光成像系统:美国 BIO-RAD 公司;BX43 光学显微镜:日本 OLYMPUS 公司;KZ-II 研磨仪:武汉赛维尔生物科技

有限公司。

1.3 动物分组及处理

将24只小鼠适应性喂养一周,按体质量排序,并根据随机数字表进行随机分组,分为4组,每组6只,各组通过灌胃给予药物,小鼠灌胃试剂与剂量见表1。

表1 小鼠灌胃试剂与剂量

Table 1 Reagents and dosages for gavage in mice

分组	试剂与剂量
正常对照组	给予生理盐水灌胃,前两周 10 mL/(kg·d),后 4 周 12 mL/(kg·d)
酒精模型组	给予 50%(体积分数)酒精灌胃,前两周 10 mL/(kg·d),后 4 周 12 mL/(kg·d)
熊果酸干预组	先给予 150 mg/(kg·d)沙棘熊果酸灌胃,1 h 后再给予酒精(剂量同酒精模型组)
益生菌组	先给予 900 mg/(kg·d)双歧杆菌四联活菌片,1 h 后再给予酒精(剂量同酒精模型组)

给药持续6周,实验期间小鼠自由进水摄食。每周末监测每组实验小鼠的体质量,根据小鼠体质量调整给药剂量。小鼠饲养在湿度50%~60%、温度(23±2)℃的动物房中,12 h 昼/夜交替照明。实验结束后,注射3%戊巴比妥钠使小鼠麻醉,然后进行摘眼球取血。从血液中分离出血清,4℃、3 000 r/min 离心 10 min,取上清液储存在-80℃冰箱。保留小肠和肝脏组织,取部分肝、肠组织于4%多聚甲醛固定液中固定,其余部分置于-80℃冰箱保存,备用。

1.4 指标检测方法

1.4.1 小鼠肝、肠组织病理学观察

取出浸泡在4%多聚甲醛溶液中固定至少24 h 的小鼠肝脏和小肠组织,进行常规脱水,石蜡包埋,随后进行组织切片,用苏木精-伊红(hematoxylin and eosin staining, HE)染色,在光学显微镜下观察肝脏和小肠的病理变化。

1.4.2 血清 ALT、AST 活性及 TBA 含量的测定

对血清中 AST、ALT 活性及 TBA 含量严格按照试剂盒说明书的要求,用酶标仪测定 505 nm 波长下的吸光度。

1.4.3 血清 LPS、D-LA 含量及 BSH 浓度的测定

应用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测血清 LPS、D-LA 含量及 BSH 浓度,严格按照试剂盒说明书操作,用酶标仪测定 450 nm 波长下的吸光度。

1.4.4 蛋白质印迹法测定肠 FXR 通路关键蛋白

分别取小鼠肝脏、肠道组织样本 50 mg,加入 500 μL 裂解液,剪碎并用研磨仪研磨。在 4℃、12 000 r/min 条件下离心 10 min。取上清液,测定样本中蛋白浓度。根据结果,加入 5 倍蛋白质凝胶电泳上样缓冲液,在 95℃下变性 10 min 后插入冰块备用。将样品缓慢加入凝胶孔中开始电泳。染料通过电泳被移动到分离凝胶上的适当位置,电泳结束。然后通过转移电泳将蛋白带转移到 PVDF 膜上,然后分别用非标记的一抗 FXR、FGF15、FGFR4、CYP7A1(体积比 1:1 000)和用辣根过氧化物酶染色的二抗进行处理和检测。蛋白相对表达量=样品蛋白条带灰度值/β-actin 条带灰度值。

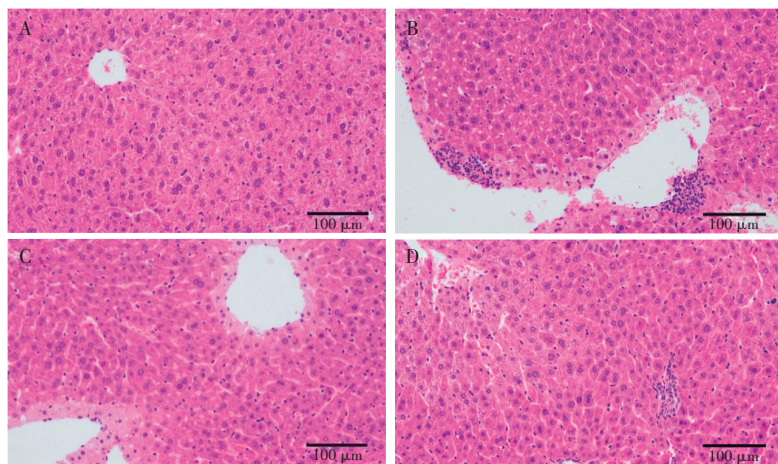
1.5 统计学分析

数据采用 SPSS 22.0 软件统计分析,数据以平均值±标准差表示,多组间比较采用单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA),两两比较采用最小显著差数(least significant difference, LSD)法的 *t* 检验,检验水准为 α=0.05(双侧检验)。

2 结果与分析

2.1 各组小鼠肝组织病理学观察

沙棘熊果酸对各组小鼠肝组织病理结构的影响见图1。



A. 正常对照组;B. 酒精模型组;C. 熊果酸干预组;D. 益生菌组。

图1 沙棘熊果酸对各组小鼠肝组织病理结构的影响(×200)

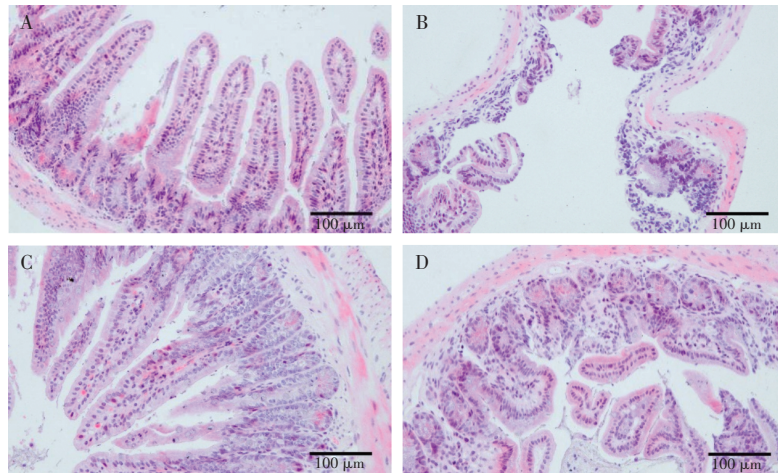
Fig.1 Effect of ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L. on the pathological structure of liver tissue of mice in each group (×200)

由图 1 可知,正常对照组小鼠的肝细胞分布均匀,以中央静脉为中心延伸的肝索,肝小叶的界限和结构明确。酒精模型组与正常对照组小鼠相比,酒精模型组肝小叶的界限和结构相对模糊,可以看到水肿的肝细胞,有大量炎症细胞浸润。益生菌组小鼠肝脏损伤较酒精模型组有所减轻,肝小叶边缘相对明显,炎症细

胞数量相对减少。而熊果酸干预组小鼠肝脏损伤明显改善,相较于益生菌组肝索排列、肝小叶结构更为清晰,炎症细胞数量明显减少。

2.2 各组小鼠肠组织病理学观察

沙棘熊果酸对各组小鼠肠组织病理结构的影响见图 2。



A. 正常对照组;B. 酒精模型组;C. 熊果酸干预组;D. 益生菌组。

图 2 沙棘熊果酸对各组小鼠肠组织病理结构的影响($\times 200$)

Fig.2 Effect of ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L. on the pathological structure of intestinal tissue of mice in various groups ($\times 200$)

由图 2 可知,小鼠肠道组织经 HE 染色后,正常对照组小鼠的小肠绒毛排列整齐,致密饱满,连接牢固,纹理清晰,未出现水肿以及炎症细胞浸润;而酒精模型组小鼠脱落大量绒毛,表现出相当大的肿胀、萎缩或缩短,并且有很多炎症细胞浸润黏膜层。与酒精模型组相比,熊果酸干预组和益生菌组的小肠绒毛明显改善,紧密连接处水肿减少,炎症细胞浸润不明显,其中熊果酸干预组改善效果更为突出。

2.3 沙棘熊果酸对酒精性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 活性及 TBA 含量的影响

各组小鼠血清 ALT、AST 活性及 TBA 含量见表 2。

表 2 各组小鼠血清 ALT、AST 活性及 TBA 含量

Table 2 Serum ALT, AST activity, and TBA content of mice in each group

组别	ALT 活性/ (U/mL)	AST 活性/ (U/mL)	TBA 含量/ ($\mu\text{mol/L}$)
正常对照组	0.70 \pm 0.24	2.22 \pm 0.42	5.34 \pm 1.42
酒精模型组	1.88 \pm 0.18*	3.74 \pm 0.24*	9.94 \pm 1.49*
熊果酸干预组	1.15 \pm 0.30**	3.17 \pm 0.29**	5.76 \pm 1.43#
益生菌组	1.26 \pm 0.42**	3.37 \pm 0.17**	6.24 \pm 1.43#

注:*表示与正常对照组相比,差异显著($P < 0.05$);#表示与酒精模型组相比,差异显著($P < 0.05$)。

由表 2 可知,与正常对照组相比,酒精模型组小鼠的血清 AST、ALT 活性显著增加($P < 0.05$);与酒精模型组小鼠相比,熊果酸干预组和益生菌组小鼠血清 AST、

ALT 活性显著降低($P < 0.05$)。与正常对照组小鼠相比,酒精模型组小鼠血清中 TBA 含量显著增加($P < 0.05$);与酒精模型组相比,熊果酸干预组和益生菌组小鼠血清中 TBA 含量显著减少($P < 0.05$),但数值上熊果酸干预组各项指标更接近于正常对照组。

2.4 沙棘熊果酸对酒精性肝损伤小鼠血清 LPS、D-LA 含量及 BSH 浓度的影响

各组小鼠血清 LPS、D-LA 含量及 BSH 浓度见表 3。

表 3 各组小鼠血清 LPS、D-LA 含量及 BSH 浓度

Table 3 Content of LPS, D-LA content, and BSH concentration in serum of mice in each group

组别	LPS 含量/ (EU/L)	D-LA 含量/ ($\mu\text{mol/mL}$)	BSH 浓度/ (ng/mL)
正常对照组	4.19 \pm 0.39	0.83 \pm 0.26	5.74 \pm 0.23
酒精模型组	4.85 \pm 0.15*	1.20 \pm 0.22*	4.75 \pm 0.29*
熊果酸干预组	4.29 \pm 0.46#	0.89 \pm 0.12#	5.08 \pm 0.17**
益生菌组	4.34 \pm 0.16#	0.91 \pm 0.05#	5.08 \pm 0.35**

注:*表示与正常对照组相比,差异显著($P < 0.05$);#表示与酒精模型组相比,差异显著($P < 0.05$)。

由表 3 可知,酒精模型组小鼠的血清 D-LA、LPS 含量显著高于正常对照组($P < 0.05$),而熊果酸干预组、益生菌组小鼠的血清 D-LA、LPS 含量相较于酒精模型组出现显著降低($P < 0.05$)。酒精模型组小鼠血清 BSH 浓度相较于正常对照组出现显著下降($P < 0.05$),而熊果酸干预组和益生菌组与酒精模型组相比,小鼠血清

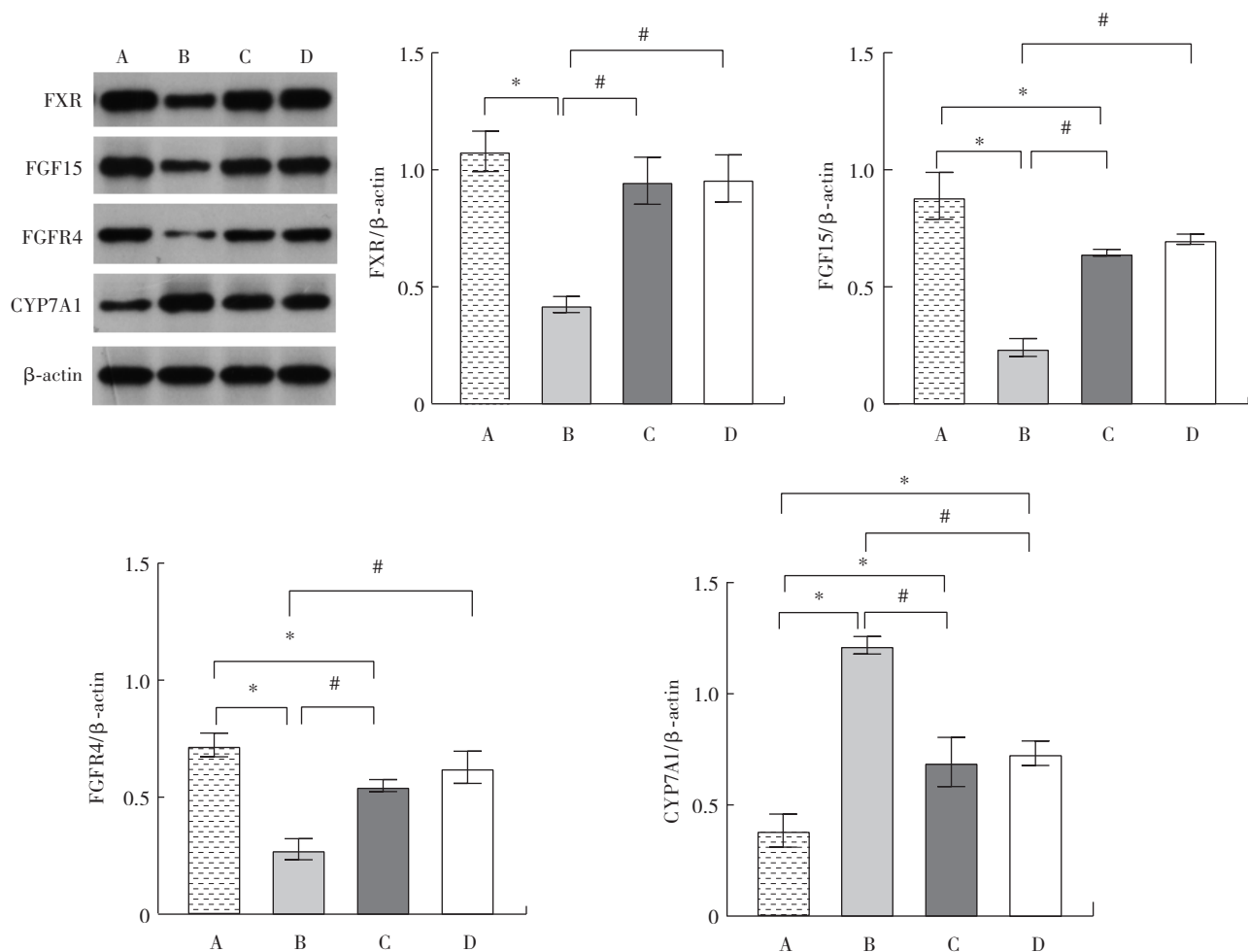
BSH 浓度显著增加($P<0.05$)。

2.5 沙棘熊果酸对酒精性肝损伤小鼠肠 FXR 通路关键蛋白的影响

前期研究发现沙棘熊果酸可以通过调节肝 FXR

通路改善酒精性肝损伤^[14]。为了进一步探究沙棘熊果酸对肠 FXR-FGF15 信号通路的影响,检测了该通路上的关键蛋白表达水平,结果如图 3 所示。

由图 3 可知,与正常对照组小鼠相比,酒精模型组



A 表示正常对照组;B 表示酒精模型组;C 表示熊果酸干预组;D 表示益生菌组。*表示与正常对照组相比,差异显著($P<0.05$);#表示与酒精模型组相比,差异显著($P<0.05$)。

图 3 沙棘熊果酸对各组小鼠肠组织 FXR、FGF15 及肝组织 FGFR4、CYP7A1 蛋白表达量的影响

Fig.3 Effect of ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L. on expression levels of FXR and FGF15 proteins in intestinal tissue and FGFR4 and CYP7A1 proteins in liver tissue of mice in different groups

小鼠肠组织 FXR、FGF15 蛋白表达水平显著降低($P<0.05$),肝脏中 FGFR4 表达显著降低($P<0.05$),CYP7A1 表达显著增加($P<0.05$)。相对于酒精模型组,熊果酸干预组及益生菌组均显著上调了肠组织 FXR、FGF15 以及肝脏中 FGFR4 的表达($P<0.05$),显著抑制了肝脏内 CYP7A1 的表达($P<0.05$)。

3 讨论

本研究以沙棘熊果酸为干预物,建立小鼠酒精性肝损伤模型,通过对各组小鼠肝、肠病理学观察、血清 ALT、AST 活性、TBA 含量以及 LPS、D-LA 含量、BSH 浓度检测,可知沙棘熊果酸对酒精性肝损伤小鼠具有

保护作用。进一步测定肠 FXR-FGF15 通路关键蛋白,发现沙棘熊果酸能够改变酒精肝损伤小鼠肠 FXR-FGF15 通路关键蛋白表达,提示沙棘熊果酸可能通过肠 FXR-FGF15 通路对酒精肝损伤小鼠发挥保护作用。

本研究显示,酒精摄入能够使小鼠肝小叶结构模糊,肝脏出现细胞水肿和大量炎症细胞,肠组织小肠绒毛肿胀脱落,黏膜层大量炎症细胞浸润,这与已有研究结果一致^[15-16]。而沙棘熊果酸和益生菌干预后肝脏损伤均得到明显改善,且病理学观察可见沙棘熊果酸的改善效果要优于益生菌组,表明沙棘熊果酸对酒精引起的肝损伤保护作用更强。

血清转氨酶 ALT、AST 是临床常见的肝功能指标,

能够反映肝脏的受损程度。当出现肝脏受损时,常见ALT、AST活性升高^[17]。本实验结果显示,酒精摄入使ALT、AST活性升高,沙棘熊果酸和益生菌干预均可使ALT、AST活性下降,说明其能够改善肝脏功能。TBA也是反映肝脏疾病的重要指标,胆汁酸由肝脏合成后排入胆汁,经肠道吸收代谢后通过门静脉返回肝脏形成循环,生理状态下血液中胆汁酸含量极低^[18]。当酒精摄入后,肝脏出现损伤,机体内胆汁酸的代谢出现紊乱,导致胆汁酸入血,从而使TBA含量升高^[19]。本实验结果显示,沙棘熊果酸和益生菌能够降低酒精摄入小鼠的TBA含量,说明两者均能够通过调节小鼠胆汁酸代谢,进而改善酒精性肝损伤。但沙棘熊果酸改善酒精性肝损伤的能力优于益生菌组。

酒精大量摄入可以通过破坏肠道菌群及肠黏膜屏障进而造成肝脏损伤^[20]。LPS是革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分,D-LA是肠道微生物代谢产物,两者均存在于肠道内,能够反映肠黏膜屏障的功能^[21]。BSH是肠道菌群的代谢产物,能够水解结合胆汁酸,在胆汁酸代谢中有着不可忽视的作用^[22]。研究发现,酒精摄入可使肠黏膜屏障受损,肠道菌群紊乱,D-LA、LPS大量释放入血,加重肝脏损伤^[23],当肠道菌群紊乱时其代谢产物BSH浓度降低,导致肠道内胆汁酸代谢失衡^[15]。益生菌能够通过调节肠道菌群紊乱,保护肠黏膜屏障从而改善酒精性肝损伤,例如双歧杆菌、嗜酸乳杆菌等^[24-25]。且有研究发现,益生菌可以通过调节FXR通路改善肝脏炎症^[26]。目前益生菌类药物如思连康(双歧杆菌四联活菌片)已用于临床调节肠道菌群平衡^[27-28]。因此本研究通过选用双歧杆菌四联活菌片作为阳性干预组,对比观察沙棘熊果酸对酒精造成的肝、肠损伤的改善效果。结果显示,酒精摄入能够引起D-LA、LPS含量增加,BSH浓度降低,沙棘熊果酸干预后D-LA、LPS含量明显降低,BSH浓度升高,与益生菌组结果相一致。但总体而言,益生菌组对酒精性肝损伤的改善效果弱于熊果酸干预组,这可能与沙棘熊果酸还可通过抗氧化、抑制肝细胞凋亡、减轻炎症反应等途径改善酒精诱导的肝脏损伤有关^[29-31]。

FXR是一种胆汁酸受体,在胆汁酸肝肠循环中起到重要作用。现有研究表明,酒精摄入可使胆汁酸代谢出现紊乱,肠道内FXR表达降低,进而导致肠FGF15、肝脏FGFR4表达降低,无法抑制肝脏内胆汁酸合成酶CYP7A1,使胆汁酸合成增加,造成胆汁淤积,出现肝脏损伤^[32]。通过使用肠道特异性FXR基因敲除小鼠进行研究发现,酒精摄入使小鼠相较正常小鼠的肠道FGF15水平进一步降低,肝脏炎症和脂肪变性进一步加重,提示酒精可通过影响肠FXR-FGF15通路对肝脏造成损伤^[33]。本实验结果显示,酒精摄入明显降低了小鼠肠组织中FXR蛋白表达,进而FGF15、

FGFR4表达降低,无法抑制肝内CYP7A1的过度表达,胆汁酸合成增加,小鼠胆汁酸稳态被破坏,表现出TBA含量显著升高,肝脏出现损伤。经沙棘熊果酸干预后,可见小鼠肠FXR蛋白表达明显上调,使得FGF15、FGFR4表达升高,进而抑制了CYP7A1的过表达,TBA含量相对于酒精模型组也有所降低,胆汁酸恢复平衡,最终起到保肝护肝的作用,益生菌组的变化趋势与熊果酸干预组相一致。

4 结论

综上所述,沙棘熊果酸能够有效改善小鼠酒精性肝损伤,机制可能与其调节肠内FXR蛋白表达、诱导肠FGF15与肝FGFR4受体相结合,抑制肝脏内CYP7A1过度表达,进而维持胆汁酸稳态有关。而基于肠FXR-FGF15通路分析沙棘熊果酸对酒精性肝损伤的保护作用,能够为探索沙棘熊果酸的保肝、护肝作用提供一个新的方向和途径,也为今后沙棘熊果酸的开发利用提供新思路。

参考文献:

- [1] THOMES P G, RASINENI K, SARASWATHI V, et al. Natural recovery by the liver and other organs after chronic alcohol use[J]. Alcohol Research, 2021, 41(1): 5.
- [2] 黄俊,江晶晶,邵慧娟,等. 1990—2019年我国酒精性肝病的疾病负担分析[J]. 现代预防医学, 2023, 50(20): 3800-3805, 3811. HUANG Jun, JIANG Jingjing, SHAO Huijuan, et al. Disease burden analysis of alcoholic liver disease in China, 1990-2019[J]. Modern Preventive Medicine, 2023, 50(20): 3800-3805, 3811.
- [3] APPELMAN M D, VAN DER VEEN S W, VAN MIL S W C. Post-translational modifications of FXR; implications for cholestasis and obesity-related disorders[J]. Frontiers in Endocrinology, 2021, 12: 729828.
- [4] MANLEY S, DING W X. Role of farnesoid X receptor and bile acids in alcoholic liver disease[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2015, 5(2): 158-167.
- [5] XUE M L, LIANG H, ZHOU Z T, et al. Effect of fucoidan on ethanol-induced liver injury and steatosis in mice and the underlying mechanism[J]. Food & Nutrition Research, 2021, 65: 65.
- [6] KONG B, ZHANG M, HUANG M X, et al. FXR deficiency alters bile acid pool composition and exacerbates chronic alcohol induced liver injury[J]. Digestive and Liver Disease, 2019, 51(4): 570-576.
- [7] 向琴,张国泰,芦润青,等. 基于文献计量分析药食同源物质缓解酒精性肝损伤研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 1-11. XIANG Qin, ZHANG Guotai, LU Runqing, et al. Research progress on the alleviation of alcoholic liver injury based on bibliometric analysis of medicinal and food homologous substances[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2): 1-11.
- [8] ŻUCHOWSKI J. Phytochemistry and pharmacology of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides*; syn. *Hippophae rhamnoides*): Progress from 2010 to 2021[J]. Phytochemistry Reviews, 2023, 22(1): 3-33.
- [9] 李雅芬,白音夫. HPLC法测定蒙药材沙棘果实中熊果酸的含量[J]. 中国民族医药杂志, 2015, 21(4): 38-39. LI Yafen, BAI Yinfu. Determination of ursolic acid in Mongolian

- medicine *Hippophae rhamnoides* fruit by HPLC[J]. Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities, 2015, 21(4): 38-39.
- [10] WAN Y P, ZHANG W, HUANG C K, et al. Ursolic acid alleviates Kupffer cells pyroptosis in liver fibrosis by the NOX2/NLRP3 inflammasome signaling pathway[J]. International Immunopharmacology, 2022, 113: 109321.
- [11] GENET C, STREHLE A, SCHMIDT C, et al. Structure-activity relationship study of betulinic acid, a novel and selective TGR5 agonist, and its synthetic derivatives: Potential impact in diabetes[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2010, 53(1): 178-190.
- [12] 丁薇, 朱丹丹, 刘名义, 等. 熊果酸对 HepG2 细胞中有机阴离子转运多肽 1B3 表达的影响及其机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(19): 2351-2355.
- DING Wei, ZHU Dandan, LIU Mingyi, et al. Effect of ursolic acid on OATP1B3 expression in Hep G2 cells and its mechanism[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2019, 35(19): 2351-2355.
- [13] 杨冬晗, 贾逸林, 张文龙, 等. 基于 TLR4 信号通路探讨熊果酸改善大鼠酒精性肝损伤的作用机制[J]. 现代预防医学, 2021, 48(6): 1099-1102, 1127.
- YANG Donghan, JIA Yilin, ZHANG Wenlong, et al. Exploring the mechanism of ursolic acid in ameliorating alcoholic liver injury in rats based on TLR4 signaling pathway[J]. Modern Preventive Medicine, 2021, 48(6): 1099-1102, 1127.
- [14] 孙悦, 张文龙, 李楠, 等. 沙棘熊果酸对酒精性肝损伤大鼠肝 FXR 信号通路的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(5): 363-370.
- SUN Yue, ZHANG Wenlong, LI Nan, et al. Effect of ursolic acid extracted from *Hippophae rhamnoides* L. on FXR signaling pathway in liver of rats with alcoholic liver injury[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(5): 363-370.
- [15] JIANG M W, LI F Y, LIU Y H, et al. Probiotic-derived nanoparticles inhibit ALD through intestinal miR194 suppression and subsequent FXR activation[J]. Hepatology, 2023, 77(4): 1164-1180.
- [16] SHUKLA P K, MEENA A S, DALAL K, et al. Chronic stress and corticosterone exacerbate alcohol-induced tissue injury in the gut-liver-brain axis[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 826.
- [17] KIM H H, SHIM Y R, CHOI S E, et al. Catecholamine induces Kupffer cell apoptosis via growth differentiation factor 15 in alcohol-associated liver disease[J]. Experimental & Molecular Medicine, 2023, 55(1): 158-170.
- [18] YANG Y X, ZHANG J F. Bile acid metabolism and circadian rhythms[J]. American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology, 2020, 319(5): G549-G563.
- [19] GONG X, ZHANG Q S, RUAN Y J, et al. Chronic alcohol consumption increased bile acid levels in enterohepatic circulation and reduced efficacy of irinotecan[J]. Alcohol and Alcoholism, 2020, 55(3): 264-277.
- [20] ZHAO S L, ZHANG Y B, DING H Y, et al. Lutein prevents liver injury and intestinal barrier dysfunction in rats subjected to chronic alcohol intake[J]. Nutrients, 2023, 15(5): 1229.
- [21] 徐丽娜, 弓震琼, 朱翰宾. 布拉氏酵母菌联合柳氮磺吡啶对溃疡性结肠炎患者 Baron 内镜评分及肠黏膜屏障功能的影响[J]. 中国医院用药评价与分析, 2023, 23(6): 657-660.
- XU Lina, GONG Zhenqiong, ZHU Hanbin. Effects of *Saccharomyces boulardii* combined with sulfasalazine on baron endoscopy score and intestinal mucosal barrier function in patients with ulcerative colitis[J]. Evaluation and Analysis of Drug - Use in Hospitals of China, 2023, 23(6): 657-660.
- [22] DALY J W, KEELY S J, GAHAN C G M. Functional and phylogenetic diversity of BSH and PVA enzymes[J]. Microorganisms, 2021, 9(4): 732.
- [23] 杨玲, 周素芳, 路月红, 等. 基于 LPS/TLR4 信号通路探讨酒精性肝病大鼠疾病进展的相关机制[J]. 医学研究生学报, 2022, 35(1): 35-40.
- YANG Ling, ZHOU Sufang, LU Yuehong, et al. The exploration of the mechanism of progression in ALD rats based on LPS/TLR4 signaling pathway[J]. Journal of Medical Postgraduates, 2022, 35(1): 35-40.
- [24] HE Q W, YANG C C, KANG X H, et al. Intake of *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 fermented milk protects against alcoholic liver disease[J]. Journal of Dairy Science, 2022, 105(4): 2908-2921.
- [25] LU X, WANG F M. *Lactobacillus acidophilus* and vitamin C attenuate ethanol-induced intestinal and liver injury in mice[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2021, 22(3): 1005.
- [26] LIU Y H, CHEN K F, LI F Y, et al. Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG prevents liver fibrosis through inhibiting hepatic bile acid synthesis and enhancing bile acid excretion in mice[J]. Hepatology, 2020, 71(6): 2050-2066.
- [27] 米琛, 刘欢宇, 厉英超, 等. 思连康与美沙拉秦对溃疡性结肠炎患者肠黏膜 TLR4、NF- κ b 表达与肠道菌群的影响[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(1): 86-89.
- MI Chen, LIU Huanyu, LI Yingchao, et al. Clinical efficacy of siliankang combining with mesalazine in treatment of ulcerative colitis and effects on intestinal mucosa TLR4 and NF- κ b expressions and intestinal microflora[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2018, 18(1): 86-89.
- [28] ZHOU Y Q, LU W, YANG G R, et al. Bile acid metabolism and liver fibrosis following treatment with bifid triple viable capsules in nonalcoholic fatty liver disease[J]. American Journal of Translational Research, 2021, 13(12): 13485-13497.
- [29] 肖淼, 吴梦颖, 刘凯会, 等. 熊果酸的提取工艺、生物活性及作用机制研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(19): 179-188.
- XIAO Miao, WU Mengying, LIU Kaihui, et al. Research progress on extraction technology, biological activity and mechanism of ursolic acid[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(19): 179-188.
- [30] 包艳红, 王强, 张文龙, 等. 沙棘熊果酸通过调节线粒体-细胞色素 C 抑制酒精性肝病大鼠模型肝细胞凋亡的作用分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(7): 1617-1626.
- BAO Yanhong, WANG Qiang, ZHANG Wenlong, et al. Ursolic acid in *Hippophae rhamnoides* L. inhibits hepatocyte apoptosis in rats with alcoholic liver disease by regulating mitochondria-cytochrome C[J]. Journal of Clinical Hepatology, 2023, 39(7): 1617-1626.
- [31] 李可欣, 张男男, 侯瑞丽, 等. 沙棘熊果酸对酒精性肝病模型大鼠的保护作用[J]. 医药导报, 2021, 40(5): 616-621.
- LI Kexin, ZHANG Nannan, HOU Ruili, et al. Protective effect of ursolic acid extracted from *Hippophae rhamnoides* L. on alcohol-induced liver disease in rats[J]. Herald of Medicine, 2021, 40(5): 616-621.
- [32] ZHANG B X, NIU L J, HUANG X W. *Lonicera caerulea* juice alleviates alcoholic liver disease by regulating intestinal flora and the FXR-FGF15 signaling pathway[J]. Nutrients, 2023, 15(18): 4025.
- [33] HUANG M X, KONG B, ZHANG M, et al. Enhanced alcoholic liver disease in mice with intestine-specific farnesoid X receptor deficiency[J]. Laboratory Investigation, 2020, 100(9): 1158-1168.