

毛蕊花糖苷对 *D*-半乳糖诱导衰老小鼠肝脏损伤及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响

马冲¹, 王倩倩¹, 耿若愚¹, 文丽梅², 杨建华^{1,2*}, 胡君萍^{1,3*}

(1. 新疆医科大学药学院, 新疆乌鲁木齐 830017; 2. 新疆医科大学第一附属医院, 新疆乌鲁木齐 830011; 3. 新疆与中亚医药资源教育部工程研究中心, 新疆乌鲁木齐 830017)

摘要: **目的** 探讨毛蕊花糖苷对 *D*-半乳糖诱导肝脏损伤的改善作用。**方法** 将 C57BL/6J 小鼠随机分为正常组、模型组、维生素 E 组 (100 mg/kg) 和毛蕊花糖苷低、高剂量组 (40、80 mg/kg), 每组 10 只, 模型组和各给药组同时皮下注射 *D*-半乳糖 (600 mg/kg), 连续 8 周。采用生化试剂盒检测血清 ALT、AST、ALP 活性和 TBil 水平, 肝组织 GSH、MDA 水平和 SOD、GSH-Px 活性; HE 染色观察肝组织病理学变化; 天狼星红染色检测肝组织纤维化面积; Western blot 法检测肝组织 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、TLR4、NF- κ B p65、I κ B α 、p-I κ B α 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 维生素 E 组和毛蕊花糖苷各剂量组小鼠体质量降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 肝脏指数升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 血清 ALT、AST、ALP 活性和 TBil 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 肝组织病理损伤以及纤维化程度减轻; 肝组织 MDA 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), GSH 水平和 SOD、GSH-Px 活性升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 毛蕊花糖苷高剂量组小鼠肝组织 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、TLR4、NF- κ B p65、p-I κ B α /I κ B α 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 毛蕊花糖苷对 *D*-半乳糖诱导的肝脏损伤具有改善作用, 其机制可能与抗氧化、抗炎以及抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路有关。

关键词: 毛蕊花糖苷; 衰老; 肝损伤; *D*-半乳糖; TLR4/NF- κ B 信号通路; 炎症

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)09-2888-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.010

Effects of verbascoside on liver damage and TLR4/NF- κ B signaling pathway in *D*-galactose-induced aging mice

MA Chong¹, WANG Qian-qian¹, GENG Ruo-yu¹, WEN Li-mei², YANG Jian-hua^{1,2*}, HU Jun-ping^{1,3*}

(1. School of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017, China; 2. The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 3. Ministry of Education Center for Engineering Research of Medicinal Resources in Xinjiang and Central Asian, Urumqi 830017, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the protective effects of verbascoside on *D*-galactose-induced liver injury in mice and its underlying mechanisms. **METHODS** C57BL/6J mice were randomly assigned to the normal group, the model group, the vitamin E group (100 mg/kg), and the low-dose and high-dose verbascoside groups (40, 80 mg/kg), with 10 mice in each group. Simultaneous administration of medicine and subcutaneous injection of *D*-galactose (600 mg/kg) went on among the groups except the normal group for 8 weeks. Serum ALT, AST, ALP activities, along with TBil levels were measured using biochemical kits. Hepatic GSH, MDA concentrations, as well as SOD and GSH-Px activities were quantified. Liver pathological morphology was evaluated by HE staining, while hepatic fibrosis area was assessed using Sirius red staining. Western blot analysis determined hepatic

收稿日期: 2025-03-07

基金项目: 国家自然科学基金 (82160772, 82360795); 新疆维吾尔自治区自然科学基金重点项目 (2021D01D11, 2022D01D14); 新疆天然药物有效成分与药物释放技术重点实验室 (XJDX1713); 新疆维吾尔自治区研究生科研创新项目 (XJ2025G187)

作者简介: 马冲 (1999—), 男, 博士生, 从事新疆特色药用资源开发研究。E-mail: machong_mmcc@163.com

* **通信作者:** 杨建华 (1971—), 男, 博士, 教授, 从事新疆特色药用资源开发研究。E-mail: yjh_yfy@163.com

胡君萍 (1971—), 女, 博士, 教授, 从事新疆特色药用资源开发研究。E-mail: hjp_yxy@163.com

expression of IL-6, IL-1 β , TNF- α , TLR4, NF- κ B p65, I κ B α and p-I κ B α proteins. **RESULTS** Compared to the model group, the groups treated with vitamin E or verbascoside demonstrated significantly reduced body weight ($P < 0.05$, $P < 0.01$); increased hepatic index ($P < 0.05$, $P < 0.01$); decreased serum activities of ALT, AST and ALP alongsided reduced TBil levels ($P < 0.05$, $P < 0.01$); attenuated pathological damage of liver tissue and fibrosis severity; reduced hepatic MDA level ($P < 0.05$, $P < 0.01$); and elevated GSH level with enhanced SOD and GSH-Px activities ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Furthermore, the high-dose verbascoside group showed significantly decreased hepatic expressions of IL-6, IL-1 β , TNF- α , TLR4, NF- κ B p65, and p-I κ B α /I κ B α proteins ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **CONCLUSION** Verbascoside improves *D*-galactose-induced liver injury through its antioxidant activity, anti-inflammatory effects, and suppression of the TLR4/NF- κ B signaling pathway.

KEY WORDS: verbascoside; aging; liver injury; *D*-galactose; TLR4/NF- κ B signaling pathway; inflammation

随着全球老龄化现象的加剧,肝脏老化已日益成为一个亟待关注的公共卫生问题^[1-3]。肝脏是人体最大的消化腺和重要的代谢和免疫器官,具有多种功能,包括蛋白质合成、糖原储存等^[4]。衰老对肝脏的影响尤为显著,大量自由基可诱导肝细胞变性、凋亡,甚至坏死^[5]。肝脏衰老还与慢性低度炎症密切相关,这种炎症状态被称为“炎症老化”^[6],进一步加剧了肝脏的损伤和功能障碍^[7]。如果不采取及时的干预措施,可能会导致非酒精性脂肪肝、肝炎及肝硬化等疾病的发生,严重降低老年人的生活质量^[8-9]。

毛蕊花糖苷是从肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight 中提取的一种含量较高的苯乙醇苷类化合物^[10]。现代药理学研究表明,毛蕊花糖苷具有多种药理活性,如衰老、肝脏保护、抗炎、抗肿瘤以及神经保护等^[11]。毛蕊花糖苷能够通过逆转肝窦内皮细胞衰老,改善肝脏缺血再灌注损伤^[12],抑制 *D*-半乳糖 (*D*-galactose, *D*-gal) 诱导的 ICR 小鼠神经系统衰老^[13],并且能够增强衰老小鼠模型的记忆^[14]。以上研究显示,毛蕊花糖苷在改善肝脏衰老方面潜力巨大。*D*-gal 会引起肝脏中活性氧的大量增加,与自然衰老的生理变化相似,被广泛用于构建氧化损伤和衰老模型^[15]。因此,本研究探讨了毛蕊花糖苷对 *D*-gal 诱导的衰老小鼠肝损伤以及对 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响,揭示毛蕊花糖苷抑制肝脏衰老的分子机制,为其临床应用于衰老相关疾病的干预提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 50 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠,8 周龄,体质量 (20.0 \pm 3.0) g,购自并饲养于新疆医科大学动物实验中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (新) 2023-0001,实验动物使用许可证号 SYXK (新) 2023-0004]。所有小鼠在标准化环境

控制室适应性饲养 7 d 后进入实验流程,环境温度 (22 \pm 2) $^{\circ}$ C,相对湿度 50% ~ 70%,12 h/12 h 昼夜节律。本实验方案经新疆医科大学医学实验动物伦理审查委员会审核通过 (伦理批号 IACUC-20220127-19)。

1.2 药物与试剂 毛蕊花糖苷 (批号 AZDF0707,纯度 >98%) 由成都埃法生物科技有限公司提供。*D*-gal (货号 G0750,纯度 >99%) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司;维生素 E (批号 EKX924) 购自上海毕得医药科技股份有限公司;丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、总胆红素 (TBil)、丙二醛 (MDA)、总超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽 (GSH) 检测试剂盒 (批号 20250102、20241231、20241230、20241121、20241228、20241224、20241209、20241216) 均购自南京建城生物工程研究所;白介素 (IL) -6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、Toll 样受体 4 (TLR4)、核因子 κ B 抑制蛋白 α (I κ B α)、磷酸化 (p-) I κ B α 、核转录因子 κ B p65 (NF- κ B p65) 抗体 (货号 A11114、A22257、A24214、A11226、A23223、AP0707、A19653) 均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

1.3 仪器 Heraeus Fresco17 离心机、FC 全自动酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司);GL-88B 涡旋仪 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司);CM1850UV 冷冻切片机、DM300 正置荧光显微镜 (德国 Leica 公司)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 按照随机数字法将 50 只 8 周龄 C57BL/6J 小鼠分为正常组、模型组、维生素 E 组 (100 mg/kg) 和毛蕊花糖苷低、高剂量组 (40、80 mg/kg),每组 10 只。模型组和各给药组

小鼠皮下注射 *D*-gal (600 mg/kg), 正常组小鼠皮下注射等体积生理盐水, 造模同时灌胃给药, 连续8周, 其中正常组和模型组灌胃给予生理盐水。末次给药后, 小鼠腹腔注射戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉, 眼球采血, 处死后收集肝脏、脾脏, 称质量并计算脏器指数。脏器指数 = (脏器质量/小鼠体质量) × 100%。将收集的血液静置 2 h, 4 °C、4 000 r/min 离心 15 min, 收集血清, 用于后续检测。

2.2 生化指标检测 按照生化试剂盒说明书进行操作, 检测小鼠血清 ALT、AST、ALP 活性和 TBil 水平, 以考察各组小鼠肝功能水平。

2.3 肝组织病理染色 取各组小鼠肝组织, 经 4% 多聚甲醛固定后, 依次进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明及石蜡包埋处理, 制备 5 μm 厚度切片。分别进行苏木精-伊红 (HE) 组织学染色与天狼星红胶原特异性染色, 在光学显微镜下进行组织病理学观察, 并采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统通过积分光密度法计算胶原纤维沉积区域占比。

2.4 肝组织氧化应激水平检测 精密称取各组等质量同解剖区域肝组织样本, 加入 9 倍量预冷生理盐水, 于组织研磨仪中研磨破碎, 4 °C、10 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 严格参照试剂盒说明书标准化操作流程执行, 检测肝组织 GSH、MDA 水平和 SOD、GSH-Px 活性。

2.5 Western blot 法检测肝组织 IL-6、IL-1β、TNF-α、TLR4、NF-κB p65、IκBα、p-IκBα 蛋白表达 取各组小鼠肝组织, 加入 RIPA 裂解液提取总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉溶液封闭, 分别加入稀释后的 IL-6、

IL-1β、TNF-α、TLR4、NF-κB p65、IκBα、p-IκBα 和 β-actin 一抗, 4 °C 孵育过夜, 加入 HRP 标记的 IgG 二抗, 室温孵育 1 h, 显影曝光, 采用 Image J 软件进行定量分析。β-actin 为内参, 以目标条带与内参条带灰度值的比值为目的蛋白相对表达量。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理, 实验数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 毛蕊花糖苷对肝衰老小鼠体质量、肝脏指数的影响 如表 1 所示, 正常组、模型组、各给药组小鼠体质量无明显变化 (P > 0.05)。与正常组比较, 模型组小鼠肝脏指数降低 (P < 0.01); 与模型组比较, 维生素 E 组和毛蕊花糖苷各剂量组小鼠肝脏指数均升高 (P < 0.05, P < 0.01)。

表 1 各组小鼠体质量、肝脏指数比较 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

Tab. 1 Comparison of mouse body weight and liver index in each group ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	体质量/g	肝脏指数/%
正常组	27.48 ± 1.26	3.92 ± 0.20
模型组	27.02 ± 1.62	3.69 ± 0.18**
维生素 E 组	26.37 ± 1.09	3.84 ± 0.15##
毛蕊花糖苷低剂量组	26.58 ± 1.83	3.85 ± 0.13#
毛蕊花糖苷高剂量组	27.35 ± 1.67	3.94 ± 0.14##

注: 与正常组比较, ** P < 0.01; 与模型组比较, # P < 0.05, ## P < 0.01。

3.2 毛蕊花糖苷对肝衰老小鼠血清肝功能指标的影响 如表 2 所示, 与正常组比较, 模型组小鼠血清 ALT、AST、ALP 活性和 TBil 水平升高 (P < 0.01); 与模型组比较, 维生素 E 组和毛蕊花糖苷各剂量组小鼠血清 ALT、AST、ALP 活性和 TBil 水平降低 (P < 0.05, P < 0.01), 表明毛蕊花糖苷可以改善衰老小鼠的肝功能水平。

表 2 各组小鼠血清 ALT、AST、ALP 活性和 TBil 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

Tab. 2 Comparison of mouse serum ALT, AST, ALP activities and TBil level in each group ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

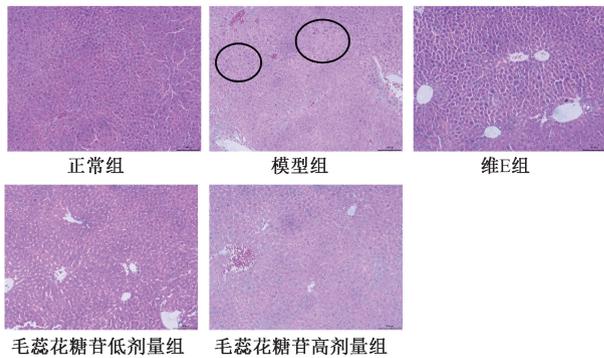
组别	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	TBil/(μmol·L ⁻¹)
正常组	30.41 ± 5.27	45.26 ± 6.49	70.26 ± 10.03	1.85 ± 0.17
模型组	61.73 ± 8.35**	80.60 ± 9.16**	131.00 ± 16.07**	4.59 ± 0.42**
维生素 E 组	39.49 ± 6.17##	57.31 ± 7.51##	89.28 ± 12.84##	2.47 ± 0.33##
毛蕊花糖苷低剂量组	48.90 ± 5.26##	66.59 ± 7.37##	101.47 ± 11.79##	3.25 ± 0.48#
毛蕊花糖苷高剂量组	37.56 ± 4.19##	52.34 ± 7.24##	83.39 ± 11.25##	2.71 ± 0.36##

注: 与正常组比较, ** P < 0.01; 与模型组比较, # P < 0.05, ## P < 0.01。

3.3 毛蕊花糖苷对肝衰老小鼠肝组织病理变化的影响 HE 染色结果显示, 正常组小鼠肝小叶三维构象保存完整, 中央静脉周围肝细胞板呈辐射状有序排列, 肝窦结构清晰可辨; 与正常组比较, 模型

组肝细胞形态异常, 肝索紊乱无序, 边界模糊, 肿胀明显, 细胞核固缩, 坏死细胞较多, 可见严重弥漫性空泡变性; 与模型组比较, 维生素 E 组和毛蕊花糖苷各剂量组小鼠肝小叶三维构象保存较完

整,边界清晰,中央静脉周围肝细胞板呈辐射状有序排列,肝窦较清楚,见图1。



注:黑色圆圈部分表示肝索紊乱无序。

图1 各组小鼠肝组织 HE 染色 (×200)

Fig. 1 HE staining of mouse liver tissue of mice in each group (×200)

天狼星红染色结果显示,正常组小鼠肝组织未见细胞纤维增生;与正常组比较,模型组小鼠肝小叶周围细胞外基质堆积,出现明显的纤维增生;与模型组比较,维生素E组和毛蕊花糖苷各剂量组小鼠肝组织中胶原堆积程度降低 ($P < 0.01$),细胞外基质堆积有所改善,纤维增生程度明显降低,见图2、表3。

3.4 毛蕊花糖苷对肝衰老小鼠肝组织氧化应激水平的影响 如表4所示,与正常组比较,模型组小鼠肝组织MDA水平升高 ($P < 0.01$),GSH水平和SOD、GSH-Px活性降低 ($P < 0.01$);与模型组比

表4 各组小鼠肝组织MDA、GSH水平和SOD、GSH-Px活性比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 4 Comparison of mouse hepatic levels of MDA and GSH, and activities of SOD and GSH-Px in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	MDA/($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$)	GSH/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)	SOD/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)	GSH-Px/($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$)
正常组	7.28±1.71	6.26±0.43	236.64±18.83	615.72±41.23
模型组	15.61±1.97**	2.21±0.50**	132.25±17.53**	384.67±26.35**
维生素E组	9.49±1.23 ^{##}	4.48±0.33 ^{##}	190.08±18.21 ^{##}	524.82±44.27 ^{##}
毛蕊花糖苷低剂量组	10.40±1.86 [#]	4.37±0.49 ^{##}	185.39±14.28 [#]	422.52±48.31 ^{##}
毛蕊花糖苷高剂量组	8.66±1.50 ^{##}	5.86±0.47 ^{##}	204.39±15.09 ^{##}	559.66±50.19 ^{##}

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。

3.5 毛蕊花糖苷对肝衰老小鼠肝组织炎症因子表达的影响 如图3、表5所示,与正常组比较,模型组小鼠肝组织IL-1 β 、IL-6及TNF- α 蛋白表达升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,毛蕊花糖苷高剂量组小鼠肝组织IL-1 β 、IL-6及TNF- α 蛋白表达降低 ($P < 0.05, P < 0.01$),毛蕊花糖苷低剂量组小鼠肝组织TNF- α 蛋白表达降低 ($P < 0.05$),表明毛蕊花糖苷可以减轻衰老小鼠肝组织的炎症反应。

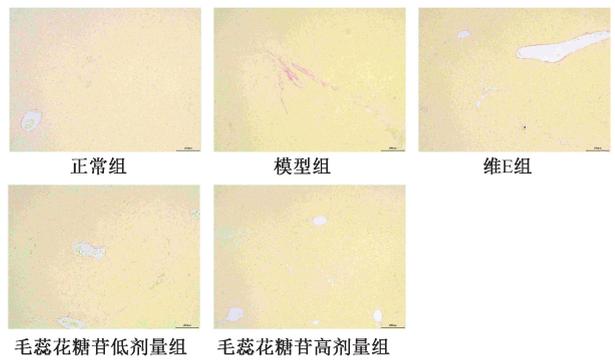


图2 各组小鼠天狼星红染色 (×200)

Fig. 2 Sirius red staining of mice in each group (×200)

表3 各组小鼠肝组织胶原沉积比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 3 Comparison of hepatic collagen deposition in liver tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	胶原沉积比/%
正常组	4.21±0.58
模型组	18.01±0.98**
维生素E组	8.24±0.69 ^{##}
毛蕊花糖苷低剂量组	9.54±0.87 ^{##}
毛蕊花糖苷高剂量组	6.28±0.77 ^{##}

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,^{##} $P < 0.01$ 。

较,维生素E组和毛蕊花糖苷各剂量组小鼠肝组织MDA水平降低 ($P < 0.05, P < 0.01$),GSH水平和SOD、GSH-Px活性升高 ($P < 0.05, P < 0.01$),表明毛蕊花糖苷可以有效抵御衰老小鼠肝组织的氧化应激。

3.6 毛蕊花糖苷对肝衰老小鼠肝组织TLR4/NF- κ B信号通路的影响 如图4、表6所示,与正常组比较,模型组小鼠肝组织TLR4、NF- κ B p65蛋白表达以及p-I κ B α /I κ B α 比值均升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,毛蕊花糖苷高剂量组小鼠肝组织TLR4、NF- κ B p65蛋白表达以及p-I κ B α /I κ B α 比值均降低 ($P < 0.01$),毛蕊花糖苷低剂量组TLR4蛋白表达以及p-I κ B α /I κ B α 比值降低 ($P < 0.01$)。

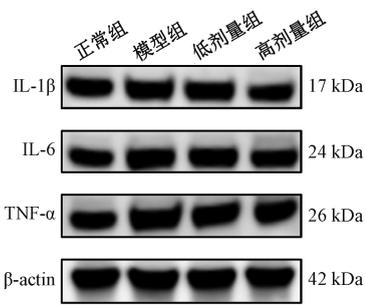


图3 各组小鼠肝组织 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 蛋白电泳图
Fig. 3 Electrophoresis images of mouse hepatic IL-1β, IL-6 and TNF-α proteins in each group

表5 各组小鼠肝组织 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab. 5 Comparison of mouse hepatic IL-1β, IL-6 and TNF-α protein expressions in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	IL-1β	IL-6	TNF-α
正常组	0.92±0.04	0.79±0.06	0.81±0.07
模型组	0.99±0.06**	1.00±0.07**	1.06±0.07**
毛蕊花糖苷低剂量组	1.00±0.02	1.01±0.04	0.98±0.05#
毛蕊花糖苷高剂量组	0.86±0.04###	0.92±0.05#	0.85±0.06###

注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，### $P < 0.01$ 。

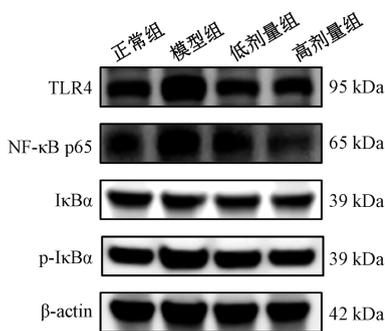


图4 各组小鼠肝组织 TLR4、NF-κB p65、p-IκBα/IκBα 蛋白电泳图

Fig. 4 Electrophoresis images of mouse hepatic TLR4, NF-κB p65 and p-IκBα/IκBα proteins in each group

表6 各组小鼠肝组织 TLR4、NF-κB p65、p-IκBα/IκBα 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab. 6 Comparison of mouse hepatic TLR4, NF-κB p65 and p-IκBα/IκBα protein expressions in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TLR4	NF-κB p65	p-IκBα/IκBα
正常组	0.90±0.07	0.75±0.07	0.82±0.07
模型组	1.04±0.08**	0.99±0.08**	1.22±0.10**
毛蕊花糖苷低剂量组	0.85±0.08###	0.93±0.08	1.04±0.07###
毛蕊花糖苷高剂量组	0.81±0.07###	0.73±0.07###	1.00±0.08###

注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，### $P < 0.01$ 。

4 讨论

肉苁蓉在抗衰老延年类方剂中的出现频率较高，素有“沙漠人参”的美誉^[16]。毛蕊花糖苷是从肉苁蓉中提取的一种含量较高的苯乙醇苷类化合物，具有抗衰老、保肝、抗炎等作用。本研究结果显示，毛蕊花糖苷能够改善肝衰老小鼠的肝脏指数，降低血清 ALT、AST、ALP、TBil 等肝功能指标水平，表明其对肝功能具有保护作用。HE 染色和天狼星红染色结果进一步证实了毛蕊花糖苷对肝脏组织病理损伤的改善作用，其能够减轻肝细胞的变性和坏死，降低肝脏组织中胶原纤维的堆积，降低纤维增生程度。

氧化应激是肝衰老的重要机制之一。本研究结果显示，模型组小鼠肝组织 MDA 水平升高，而 GSH 水平和 SOD、GSH-Px 活性降低，表明 D-半乳糖诱导的肝衰老小鼠存在明显的氧化应激损伤。而毛蕊花糖苷能够降低 MDA 水平，升高 GSH 水平和 SOD、GSH-Px 活性，表明其具有良好的抗氧化作用，能够有效抵御衰老小鼠肝组织的氧化应激损伤。

炎症反应在肝衰老的发生发展中起着重要作用。本研究结果显示，模型组小鼠肝组织 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 表达升高，而毛蕊花糖苷能够降低其表达，表明毛蕊花糖苷具有减轻衰老小鼠肝组织炎症反应的作用。提示毛蕊花糖苷可能通过抑制炎症细胞的活化、减少炎症介质的释放等途径发挥抗炎作用。

TLR4/NF-κB 信号通路在肝衰老中扮演着重要角色，尤其是在炎症反应和氧化应激的调控方面。作为 TLR4 信号通路的下游效应因子，NF-κB 由 NF-κB p65 和 p50 等构成的异源二聚体与抑制性蛋白 IκBα 相结合。在病理条件下，IκB 激酶能够导致 IκBα 的特异性磷酸化，促使 NF-κB p65 转移至细胞核内，从而引发机体释放炎症因子并产生炎症反应^[17]。炎症状态不仅加速了肝细胞的衰老过程，还可能导致肝脏功能的进一步下降^[18]。此外，TLR4/NF-κB 信号通路的异常激活与多种肝脏疾病的发生密切相关，包括非酒精性脂肪肝病和肝纤维化等^[19]。研究发现，TLR4 的过度激活导致了 NF-κB 的持续激活，进而加剧了肝脏的炎症和纤维化进程，提示 TLR4/NF-κB 信号通路可能成为肝衰老及相关疾病的治疗靶点^[20]。本研究结果显示，模型组小鼠肝组织 TLR4、NF-κB p65 蛋白表达以及 p-IκBα/IκBα 比值均升高，而毛蕊花糖苷能够降低

这些蛋白的表达,表明毛蕊花糖苷可能通过抑制TLR4/NF- κ B信号通路的激活,发挥抗炎作用,进而改善肝衰老。

综上所述,毛蕊花糖苷对D-半乳糖诱导的肝损伤具有显著的改善作用,其机制可能与抗氧化、抗炎以及抑制TLR4/NF- κ B信号通路有关。本研究为毛蕊花糖苷在临床上用于治疗肝脏衰老相关疾病提供了理论依据。

参考文献:

[1] Yang H, Hua J L, Wang C. Anti-oxidation and anti-aging activity of polysaccharide from *Malus micromalus Makino* fruit wine[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 121: 1203-1212.

[2] Guo Y, Guan T, Shafiq K, et al. Mitochondrial dysfunction in aging[J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 88: 101955.

[3] Zeng C, Feng S. The antioxidant capacity *in vitro* and *in vivo* of polysaccharides from *Bergenia emeiensis*[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7456.

[4] Cheng M L, Nakib D, Perciani C T, et al. The immune niche of the liver[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2021, 135 (20): 2445-2466.

[5] Azman K F, Safdar A, Zakaria R. D-galactose-induced liver aging model: its underlying mechanisms and potential therapeutic interventions[J]. *Exp Gerontol*, 2021, 150: 111372.

[6] Yao J, Li Y, Wang H. The roles of myeloid cells in aging-related liver diseases[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19 (5): 1564-1578.

[7] Zarandi P K, Ghiasi M, Heiat M. The role and function of lncRNA in ageing-associated liver diseases[J]. *RNA Biol*, 2025, 22(1): 1-8.

[8] Shen L, Fan L, Luo H, et al. Cow placenta extract ameliorates D-galactose-induced liver damage by regulating BAX/CASP3 and p53/p21/p16 pathways[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 323: 117685.

[9] 华 伊, 周玉春, 眭荣春, 等. 固本延龄丸通过NF- κ B信号

通路拮抗小鼠肝衰老作用及其机制研究[J]. *中国药理学通报*, 2024, 40(7): 1367-1374.

[10] 王 志, 张海波, 居博伟, 等. 毛蕊花糖苷对大鼠肝微粒体中6种CYP酶的体外抑制作用[J]. *中国药房*, 2022, 33(6): 685-692.

[11] 黄文静, 谢兴亮, 盛艳梅. 毛蕊花糖苷药理作用及其制剂研发进展[J]. *中草药*, 2024, 55(23): 8256-8268.

[12] Jia K, Zhang Y, Luo R, et al. Acteoside ameliorates hepatic ischemia-reperfusion injury *via* reversing the senescent fate of liver sinusoidal endothelial cells and restoring compromised sinusoidal networks[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(15): 4967-4988.

[13] Xiong L, Mao S, Lu B, et al. *Osmanthus fragrans* flower extract and acteoside protect against D-galactose-induced aging in an ICR mouse model[J]. *J Med Food*, 2016, 19(1): 54-61.

[14] Peng X M, Gao L, Huo S X, et al. The mechanism of memory enhancement of acteoside (verbascoside) in the senescent mouse model induced by a combination of D-gal and AlCl₃[J]. *Phytother Res*, 2015, 29(8): 1137-1144.

[15] Zhao C, Chen Z, Liang W, et al. D-Galactose-induced accelerated aging model on auditory cortical neurons by regulating oxidative stress and apoptosis *in vitro*[J]. *J Nutr Health Aging*, 2022, 26(1): 13-22.

[16] 武改红, 王雪峰, 王 军, 等. 肉苁蓉提取物及其在化妆品中的美白抗衰机制研究进展[J]. *日用化学品科学*, 2023, 46(8): 35-38; 64.

[17] 罗欣杰, 杨建华, 胡君萍. 肉苁蓉多糖通过影响肠道菌群抑制Toll样受体4/核因子- κ B途径改善小鼠糖尿病肾病[J]. *食品科学*, 2024, 45(21): 185-193.

[18] 毛 竹, 朱继孝, 曾金祥, 等. 短管兔耳草提取物对对乙酰氨基酚诱导小鼠药物性肝损伤的保护作用与机制[J]. *中成药*, 2022, 44(9): 3004-3008.

[19] Deng R M, Zhou J. Targeting NF- κ B in hepatic ischemia-reperfusion alleviation: from signaling networks to therapeutic targeting[J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(6): 3409-3426.

[20] Seki E, De Minicis S, Osterreicher C H, et al. TLR4 enhances TGF- β signaling and hepatic fibrosis[J]. *Nat Med*, 2007, 13(11): 1324-1332.