# 胸腺素 α1 对酵母多糖诱导多器官功能衰竭模型大鼠肝损伤的保护

https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.3076
投稿日期：2019-12-23
送审日期：2019-12-28
采用日期：2020-02-26
在线日期：2020-09-23
中图分类号：
R446；R496；R318
文章编号：
2095-4344(2021)11-01753-06
文献标识码：B

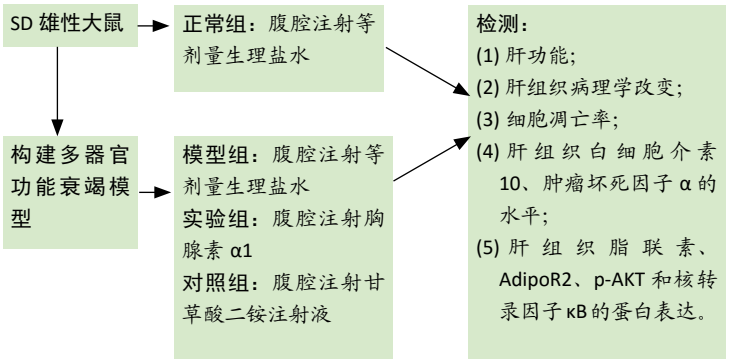
马明和，牛 毅

**文章快速阅读：**

文章特点—

△胸腺素 α1 能抑制多器官功能衰竭动物模型中的炎性递质的大量释放，缓解肝组织损伤以及改善肝功能障碍；

△ADPN/Akt/NF-κB 信号在炎症性应激中调控炎性递质的作用，发挥保护肝脏的作用。




文题释义：

**多器官功能衰竭：**又被称为多器官功能障碍综合征，主要表现为机体内2个或2个以上的器官发生急性功能障碍或衰竭，以全身性的产生和释放各种炎性递质为主要特点，多发生在病情急性进展期，是ICU患者死亡的重要原因。

**胸腺素α1：**是机体内胸腺肽中生物活性最强的组成成分之一，具有刺激淋巴细胞的增殖、分化，增强细胞免疫的作用，在炎症性病理过程中具有调节炎性介质分泌，细胞凋亡等作用，在临床上用于治疗慢性乙型肝炎。

摘要

**背景：**多器官功能衰竭模型中的肝损伤给临床医师的用药造成较大的困扰，胸腺素α1用于慢性肝炎的治疗，对肝损伤具有明显的保护作用。

**目的：**基于ADPN/Akt/NF-κB信号通路探讨胸腺素α1对多器官功能衰竭大鼠肝脏的保护机制。

**方法：**SPF级SD雄性大鼠随机分为4组：正常组、模型组、实验组、对照组。除正常组外其余大鼠参照文献采用腹腔注射500 mg/kg酵母多糖(50 g/L)构建大鼠多器官功能衰竭模型；正常组大鼠腹腔注射等剂量生理盐水。注射30 min后，实验组、对照组大鼠每日定点分别腹腔注射2 mL的 0.5 mg/kg胸腺素α1和甘草酸二铵注射液，正常组和模型组腹腔注射等剂量生理盐水。在连续给药7 d后，进行肝功能检测；采用苏木精−伊红染色、TUNEL染色检测大鼠肝组织病理学改变及细胞凋亡率；采用免疫组化、Western blot检测大鼠肝组织白细胞介素10、肿瘤坏死因子α的水平及脂联素、AdipoR2、p-AKT和核转录因子κB的蛋白表达。

**结果与结论：**①与正常组相比，模型组大鼠血清中丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶、总胆红素、肝损伤病理评分、细胞凋亡率、肿瘤坏死因子α水平及核转录因子κB的蛋白表达明显升高，总蛋白、白细胞介素10水平及脂联素、AdipoR2、p-AKT的蛋白表达明显降低(均$P$ < 0.05)；与模型组相比，实验组和对照组大鼠血清中丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶、总胆红素、肝损伤病理评分、细胞凋亡率、肿瘤坏死因子α水平及核转录因子κB的蛋白表达明显降低，总蛋白、白细胞介素10水平及脂联素、AdipoR2、p-AKT的蛋白表达明显升高(均$P$ < 0.05)；②结果说明，胸腺素α1对酵母多糖诱导的多器官衰竭大鼠的肝脏有保护作用，其机制与ADPN/Akt/NF-κB信号通路信号通路有关，ADPN/Akt被激活，抑制核转录因子κB的活化，从而减轻炎症反应。

**关键词：**肝；胸腺素α1；多器官；功能衰竭；信号通路；肝损伤；脂联素

## Thymosin alpha1 protects against liver injury in rats with zymosan-induced multiple organ failure

**Ma Minghe, Niu Yi**

Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810000, Qinghai Province, China

Ma Minghe, Attending physician, Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810000, Qinghai Province, China

**Abstract**

**BACKGROUND:** Liver injury in a multiple organ failure model causes great troubles to clinicians' medication. Thymosin α1 is used for treating chronic hepatitis and it has obvious protective effects against liver injury.

青海大学附属医院重症医学，青海省西宁市 810000

**第一作者：**马明和，男，1981 年生，青海省西宁市人，回族，主治医师，主要从事脓毒症、多脏器功能衰竭的研究。

https://orcid.org/0000-0001-6049-1268 ( 马明和 )

**基金资助：**青海省科技项目 (2015-ZJ-769)，项目负责人：牛毅

**引用本文：**马明和，牛毅 . 胸腺素 α1 对酵母多糖诱导多器官功能衰竭模型大鼠肝损伤的保护 [J]. 中国组织工程研究，2021，25(11):1753-1758.

**OBJECTIVE:** To investigate the protective mechanism of thymosin α1 on liver injury in a rat model of multiple organ failure, based on adiponectin (ADPN)/protein kinase B (Akt)/nuclear factor κB (NF-κB) signaling pathway.
**METHODS:** Male SPF Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups: normal group, model group, experimental group, and control group. Rats in the model group, experimental group, and control group were given intraperitoneal injection of 500 mg/kg zymosan (50 g/L) to construct the rat multiple organ failure model. Normal rats were injected intraperitoneally with equal doses of normal saline. Thirty minutes after the injection, the rats in the experimental group and the control group were injected intraperitoneally with 2 mL of thymosin α1 and ganlixin with the dose of 0.5 mg/kg daily, respectively. The normal group and the model group were injected intraperitoneally with the same dose of normal saline. After 7 days of continuous administration, liver function parameters were tested; histopathological changes of rat liver tissues and cell apoptosis were detected using hematoxylin-eosin staining and TUNEL staining; immunohistochemistry and western blot were used to detect the expression of interleukin-10, tumor necrosis factor α (TNF-α), adiponectin (ADPN), adiponectin recepror 2, AdipoR2, p-AKT and NF-κB.
**RESULTS AND CONCLUSION:** Compared with the normal group, the levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, total bilirubin in the serum, the pathological scores of liver injury, the cell apoptotic rate, and the expression levek of TNF-α and NF-κB were significantly increased in the model group, while the serum levels of total protein, interleukin-10, ADPN, AdipoR2 and p-AKT were significantly reduced in the model group (all $P < 0.05$). Compared with the model group, the serum levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, total bilirubin, the pathological scores of liver injury, and cell apoptotic rate in the experimental group and control group were significantly reduced, and the serum levels of total protein, interleukin-10, ADPN, AdipoR2 and p-AKT were significantly increased (all $P < 0.05$). To conclude, thymosin α1 has a protective effect on the liver of rats with multiple organ failure induced by zymosan. The mechanism is related to the ADPN/Akt/NF-κB signaling pathway. ADPN/Akt is activated and the activation of NF-κB is inhibited, then reducing the inflammatory response.
**Key words:** liver; thymosin α1; multiple organs; functional failure; signaling pathway; liver injury; adiponectin

**Funding:** *the Science and Technology Research Project of Qinghai Province, No. 2015-ZJ-769 (to NY)*
***How to cite this article:*** *MA MH, NIU Y. Thymosin alpha1 protects against liver injury in rats with zymosan-induced multiple organ failure. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2021;25(11):1753-1758.*

## 0 引言 Introduction

由全身感染、休克、尿毒症、胰腺炎等因素导致的多器官功能衰竭是常见的临床综合征，其发病机制及其复杂，是造成 ICU 患者失去生命的主要原因，成为临床危重学科研究的热点 [1]。研究表明肝脏是多器官功能衰竭时的受累器官，并且肝脏损伤不仅发展快，而且直接影响患者预后进程 [2]。已经证实过度的炎性应激是造成多器官功能衰竭时肝损伤的主要原因 [3]，而脂联素 (adiponectin，ADPN) 与其受体 2(adiponectin recepror 2，AdipoR2) 特异性结合后能明显抑制炎性因子的表达，缓解肝损伤 [4]。赵文霞等 [5] 研究表明 ADPN/ 蛋白激酶 B(protein kinase B，Akt)/ 核转录因子 κB(nuclear factor-κB，NF-κB)(ADPN/Akt/NF-κB) 信号保护非酒精性脂肪性肝炎大鼠的肝脏，但未见 ADPN/Akt/NF-κB 信号在多器官功能衰竭时肝损伤中的作用。

胸腺素 α1 是一种具有增强细胞免疫和调节免疫平衡等作用的多肽激素，主要用于慢性乙型肝炎的治疗。杨雪亮等 [6] 研究表明胸腺素 α1 能明显抑制急性肝衰竭大鼠肝脏中肿瘤坏死因子 α 的表达，上调抑炎分子白细胞介素 10 的分泌，发挥保护模型动物肝脏的作用。但未见胸腺素 α1 对多器官功能衰竭时肝脏的作用。此次研究采用酵母多糖构建大鼠多器官功能衰竭模型，探讨胸腺素 α1 通过 ADPN/Akt/NF-κB 信号通路的调节对多器官功能衰竭时大鼠肝脏的保护作用，从而为胸腺素 α1 的临床应用提供基础实验数据。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于 2019 年 5 月至 11 月在青海大学附属医院动物基础实验中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 SPF 级 8–10 周龄的 SD 雄性大鼠 80 只，体质量 200–220 g，从北京维通利华实验动物技术有限公司采购，许可证号：SCXK( 京 )2016-0011；依照青海大学附属医院实验动物管理办法，室温下标准饲料、自由饮水、分笼 (4 笼 ) 适应性饲养 1 周后用于实验。

1.3.2 主要试剂和仪器 注射用胸腺素 α1 (1.6 mg，海南双成药业有限公司，批号为：国药准字 H20030407)；甘草酸二铵注射液 ( 商品名：甘利欣，10 mL/ 支，江苏正大天晴药业股份有限公司，批号为：国药准字 H10940190)，酵母多糖 (100 mg/1 g，美国 sigma 公司，批号为：Z4250-250)；免疫组化试剂盒 ( 美国 Selleck 公司 )；蛋白浓度测定试剂盒、化学发光试剂盒 ( 天津百浩鑫生物有限公司 )；脂联素、AdipoR2、p-AKT 和核转录因子 κB 抗体 ( 美国 Santa 公司 )；多聚甲醛、二甲苯 ( 美国 PALL 公司 )；苏木精 – 伊红染色试剂盒 ( 美国樱花公司 )；原位缺口末端标记 (TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling, TUNEL) 试剂盒、Western blot 试剂盒 ( 美国 abcam 公司 )；Nikon Ti-U/Ti-s 倒置荧光显微镜 ( 型号：H-7650，日本三菱公司 )；小微动物全自动生化仪 ( 美国 Corning 公司 )；E-Gel Imager 凝胶成像仪 ( 美国 Beckma 公司 )。

1.4 实验方法

1.4.1 模型构建和分组处理 将 80 只 8–10 周龄的 SPF 级 SD 雄性大鼠随机分为 4 组 ($n$=20)：正常组、模型组、胸腺素 α1 干预组 ( 实验组 )、阳性对照药物甘草酸二铵注射液干预组 ( 对照组 )。除正常组外其他大鼠参照文献 [7] 采用腹腔一次性注射 500 mg/kg 酵母多糖 (0.1 g 酵母多糖溶解在 0.9% 的氯化钠中形成混悬液，酵母多糖的质量浓度为 50 g/L) 构建大鼠多器官功能衰竭模型，正常组大鼠腹腔注射等剂量生理盐水。注射 30 min 后，实验组、对照组大鼠分别腹腔注射 0.5 mg/kg 胸腺素 α1 或甘草酸二铵注射液，注射剂量 2 mL，每日定点注射 1 次，正常组和模型组腹腔注射等剂量生理盐水，连续给药 7 d，所有大鼠标准饲料，自由饮水喂养。

1.4.2 收集各组大鼠血清标本以及生化检测其血清标本中的肝功能指标 在连续给药 7 d 后，经尾静脉收集各组大鼠的静脉血，离心后获得血清，全自动生化仪检测各组大鼠血清中总蛋白，丙氨酸转氨酶，天冬氨酸转氨酶和总胆红素水平。

| 骨髓间充质干细胞的培养及鉴定 | |
|---|---|
| 造模目的： | 基于 ADPN/Akt/NF-κB 信号通路探讨胸腺素 α1 对多器官功能衰竭大鼠肝脏的保护机制 |
| 借鉴已有标准实施动物造模： | 参照文献 [7] 构建大鼠多器官功能衰竭模型 |
| 动物来源及品系： | SPF 级 SD 雄性大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司 |
| 模型与所研究疾病的关系： | 采用酵母多糖复制多器官功能衰竭动物模型能较好地模拟多器官功能衰竭临床病理生理改变，广泛应用在多器官功能衰竭的相关研究中 |
| 造模技术描述： | 采用腹腔一次性注射 500 mg/kg 酵母多糖 (0.1 g 酵母多糖溶解在 0.9% 的氯化钠中形成混悬液，酵母多糖的浓度为 50 g/L) |
| 造模主要诱导用药： | 酵母多糖 |
| 动物数量及分组方法： | 大鼠随机分为 4 组：正常组、模型组、胸腺素 α1 干预组 ( 实验组 )、阳性对照药物甘草酸二铵注射液干预组 ( 对照组 )，每组 20 只 |
| 造模成功评价指标： | 肝功能检测以及病理结果显示模型组大鼠血清中丙氨酸转氨酶，天冬氨酸转氨酶，总胆红素明显升高，总蛋白明显降低，肝损伤组织病理明显，说明构建多器官功能衰竭模型成功 |
| 造模后实验观察指标： | ①大鼠肝功能；②肝组织病理改变；③肝组织的细胞凋亡情况；④肝组织中白细胞介素 10 和肿瘤坏死因子 α 的表达；⑤肝组织中脂联素、AdipoR2、p-AKT 和核转录因子 κB 的表达 |
| 造模后动物处理： | 在连续给药 7 d 后，经尾静脉收集大鼠的静脉血；麻醉后处死大鼠，无菌收集大鼠的肝组织，进行相关指标检测 |
| 伦理委员会批准： | 实验方案经青海大学附属医院动物实验伦理委员会批准，批准号为 IACUC( 青 )2019-087 |

1.4.3 苏木精－伊红染色观察各组大鼠肝组织的组织病理学改变　留取血清后，将大鼠诱导麻醉，施以断头处死，无菌收集大鼠的肝组织。90% 肝组织迅速转移至惰性气体罐中，−80 ℃深冷冰箱保存待测，同时将 10% 肝组织，以多聚甲醛固定，常规切片后苏木精－伊红染色，显微镜下观察各组大鼠肝组织病理改变。同时参照文献 [8] 采用的评分方法，对大鼠肝损伤程度进行评价，评分标准为：0 分：无损伤；1 分：轻度损伤，胞浆出现空泡变性，部分胞核出现核固缩；2 分：中、重度损伤，胞浆内出现较多的嗜酸性粒细胞，细胞界限模糊，大量胞核出现核固缩；3 分：发生严重坏死，伴有肝索解体，出现大量出血点，以及中性粒细胞大量浸润。

1.4.4 TUNEL 染色检测各组大鼠肝组织中的细胞凋亡情况　从冰箱中取出 10% 大鼠肝组织，常规方法固定，石蜡包埋切片，二甲苯浸洗 2 次，梯度浸洗 5 min，风干后体积分数 3% 双氧水－甲醇浸泡 10 min，PBS 漂洗 3 次，每次 3 min。然后 4 ℃预冷乙醇上进行如下操作：0.1%TritonX-100、0.1% 缓冲液处理 2 min，PBS 漂洗 3 次，每次 3 min，加入 TUNNEL 反应混合液，加封口膜在暗湿盒中反应 1 h，温度 37 ℃，PBS 漂洗，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树脂封固。采用显微镜进行观察，并用 Image J 软件对各组吸光度值进行分析。

1.4.5 免疫组化检测各组大鼠肝组织中白细胞介素 10 和肿瘤坏死因子 α 的水平　从冰箱中取出 20% 大鼠肝组织，常规固定、脱水、浸蜡、包埋、切片，PBS 冲洗后，鸡蛋清于 37 ℃下封闭，加入一抗 (1 ： 100)，4 ℃孵育过夜，次日加入二抗 (1 ： 200)，PBS 冲洗后，苏木素复染，封固。采用显微镜下观察结果，并用 Image Pro Plus8.0 软件进行图像统计分析。

1.4.6 免疫荧光检测各组大鼠肝组织中核转录因子 κB 的核移位　从冰箱中取出 10% 大鼠肝组织，质量浓度 100 g/L 的多聚甲醛固定，石蜡包埋并切片，按照免疫荧光的试剂盒要求进行操作。在荧光显微镜下，核转录因子 κB 发生核移位后以细胞核染色为主 [9]，随机选取 6 个视野计算样品的平均荧光强度值。

1.4.7 Western blot 检测各组大鼠肝组织中脂联素、AdipoR2、p-AKT 和核转录因子 κB 的表达　从冰箱中取出 10% 大鼠肝组织，裂解，离心 (13 000 r/min，4 ℃，10 min)，留取上清，测定浓度后，电泳、转膜、鸡蛋清封闭，滴加一抗 (1 ： 100)，4℃孵育过夜，加入二抗 (1 ： 100)，PBS 冲洗，显色，凝胶成像仪下读取各条带的灰度值。

1.5 主要观察指标　①大鼠肝功能；②肝组织病理改变；③肝组织的细胞凋亡情况；④肝组织中白细胞介素 10 和肿瘤坏死因子 α 的表达；⑤肝组织中脂联素、AdipoR2、p-AKT 和核转录因子 κB 的表达。

1.6 统计学分析　数据分析采用软件 SPSS 16.0，符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，两两间比较采用独立 $t$ 检验，$P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

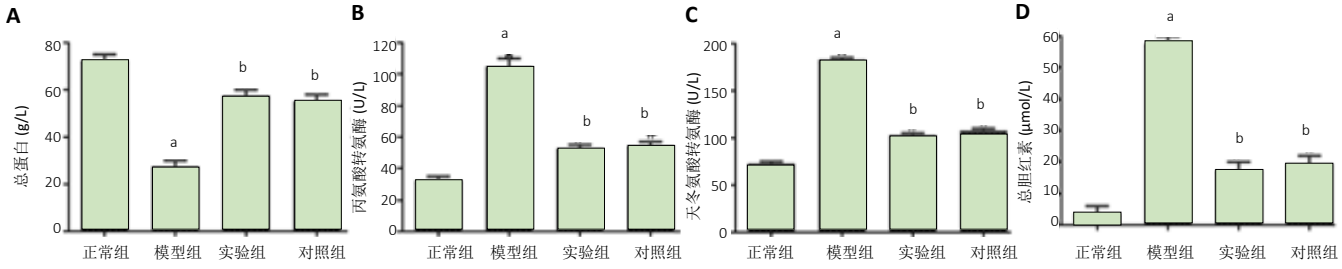
## 2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析　实验选用大鼠 20 只，分为 4 组，实验过程无脱失，全部进入结果分析。

2.2 各组大鼠肝功能的比较　见**图 1**。与正常组相比，模型组大鼠血清中丙氨酸转氨酶，天冬氨酸转氨酶，总胆红素明显升高，总蛋白明显降低 ($P < 0.05$)；经药物干预后，与模型组相比，实验组、对照组大鼠血清中丙氨酸转氨酶，天冬氨酸转氨酶，总胆红素明显降低，总蛋白明显升高 ($P < 0.05$)，实验组和对照组相比，差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。

2.3 各组大鼠肝组织病理改变　见**图 2**。正常组大鼠肝组织结构完整，细胞排列整齐，肝索结构完整；与正常组相比，模型组大鼠肝组织出现明显的空泡性变性，细胞肿胀明显，肝索结构破坏严重，汇管区大量炎性细胞浸润，肝损伤病理评分明显升高 ($P < 0.05$)；与模型组相比，实验组和对照组大鼠肝组织损伤明显缓解，肝细胞稍见肿胀，炎性细胞浸润数量明显减少，肝损伤病理评分明显下降 ($P < 0.05$)。实验组和对照组相比，差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。

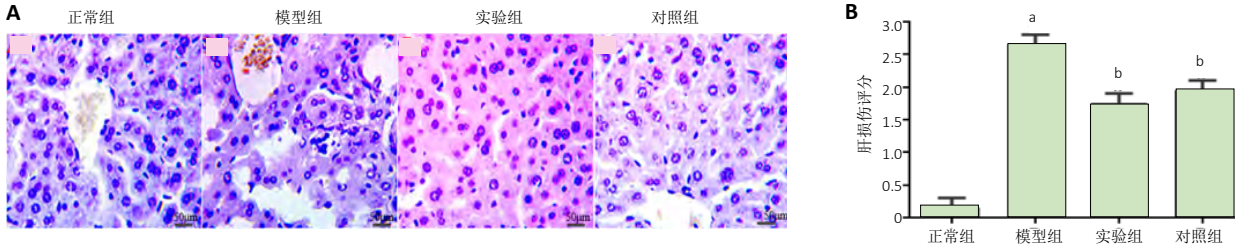
2.4 TUNEL 检测各组大鼠肝组织的细胞凋亡　见**图 3**。与正常组相比，模型组大鼠肝组织的细胞凋亡率明显升高 ($P < 0.05$)，与模型组相比，实验组和对照组大鼠肝组织的细胞凋亡率明显下降 ($P < 0.05$)，实验组和对照组相比，差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。




图注：图 A–D 分别为总蛋白、丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶、总胆红素统计结果，与正常组相比，$^{a}P < 0.05$；与模型组相比，$^{b}P < 0.05$

**图 1 | 各组大鼠肝功能的比较**

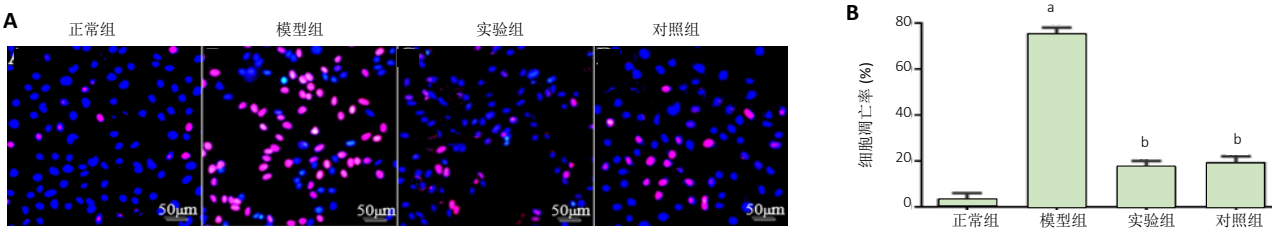
**Figure 1 | Liver function of rats in each group**




图注：图 A 为苏木精－伊红染色结果 ( 标尺 =50 μm)；B 为肝组织病理评分统计结果，与正常组相比，$^{a}P < 0.05$；与模型组相比，$^{b}P < 0.05$

**图 2 | 观察各组大鼠肝组织病理损伤**

**Figure 2 | Pathological damage of the liver in rats**




图注：图 A 为 TUNEL 染色结果 ( 标尺 =50 μm)；B 为细胞凋亡率统计结果；与正常组相比，$^{a}P < 0.05$；与模型组相比，$^{b}P < 0.05$

**图 3 | TUNEL 染色检测各组大鼠肝组织的细胞凋亡**

**Figure 3 | TUNEL detection of apoptosis in the rat liver**

2.5 免疫组化检测各组大鼠肝组织中白细胞介素 10 和肿瘤坏死因子 α 的表达　见**图 4**，**5**。与正常组相比，模型组大鼠肝组织中抑炎因子白细胞介素 10 的表达明显下降，促炎因子肿瘤坏死因子 α 的表达明显增强，差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)；与模型组相比，实验组和对照组大鼠肝组织中抑炎因子白细胞介素 10 的表达明显增强，促炎因子肿瘤坏死因子 α 的表达明显下降，差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)，实验组和对照组相比，差异无显著性 ($P > 0.05$)。

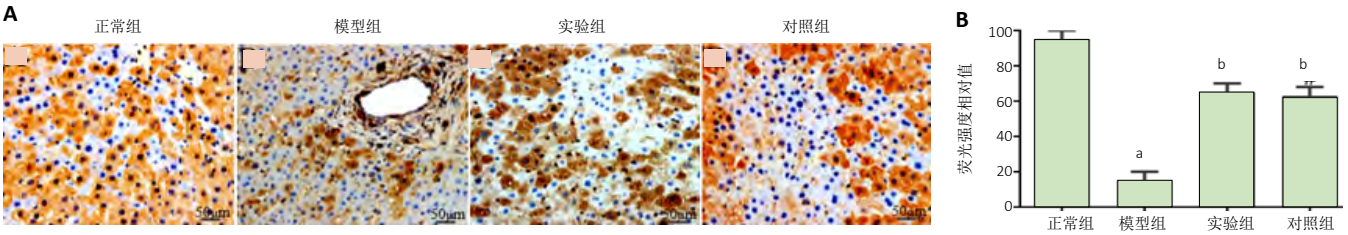
2.6 免疫荧光检测各组大鼠肝组织中核转录因子 κB 的核移位　核转录因子 κB 作为一种炎性调控因子，在应激反应开始后活化转移进入细胞核 [10]。研究采用免疫荧光检测大鼠肝组织中核转录因子 κB 的核移位，见**图 6**。正常组细胞核内基本无荧光。与正常组相比，模型组大鼠肝组织细胞内核转录因子 κB 核移位，细胞核荧光强度明显增强 ($P < 0.05$)，与模型组相比，实验组和对照组大鼠肝组织细胞核内核转录因子 κB 的荧光强度明显减弱 ($P < 0.05$)。实验组和对照组相比，大鼠肝组织细胞核内核转录因子 κB 的荧光强度差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。

2.7　Western blot 检测各组大鼠肝组织中脂联素、AdipoR2、p-AKT 和核转录因子 κB 的表达　见**图 7**。与正常组相比，模型组大鼠肝组织中脂联素、AdipoR2、p-AKT 的表达明显降低，核转录因子 κB 蛋白的表达明显升高 ($P < 0.05$)；和模型组相比，实验组和对照组大鼠肝组织中脂联素、AdipoR2、p-AKT 的表达明显升高，核转录因子 κB 蛋白的表达明显下降 ($P < 0.05$)。实验组和对照组，蛋白表达差异不明显 ($P > 0.05$)，不具有统计学意义。

## 3　讨论　Discussion

多器官功能衰竭是晚期脓毒症患者失去生命的主要原因。近年来虽有数十种抗炎药物投入临床治疗，但仍未明显降低多器官功能衰竭的死亡率。肝脏是该病变中的主要损伤器官。研究表明炎症反应导致的肝组织的细胞凋亡发生的肝组织结构改变是多器官功能衰竭时肝损伤的关键因素 [10]。由此寻找有效控制炎性或者降低多器官功能衰竭时的肝细胞的凋亡率是改善多器官功能衰竭患者肝损伤的关键所在。

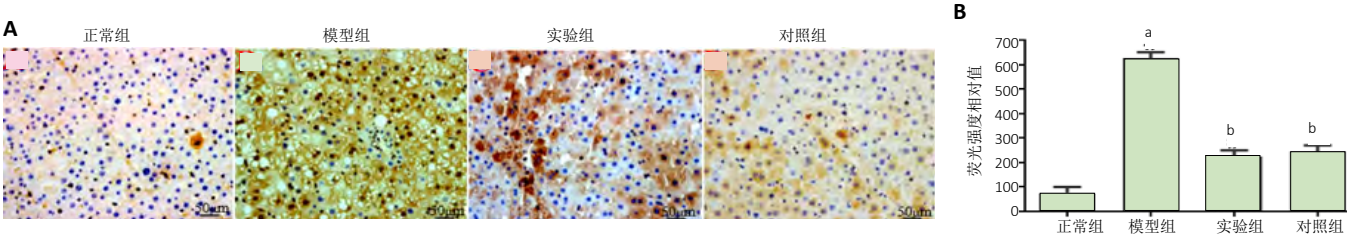
酵母多糖能够引起机体的无菌性腹膜炎，强化炎症反应，刺激炎性因子的分泌和募集，引发机体更广泛的免疫应答 [11]。因此采用酵母多糖复制多器官功能衰竭动物模型能较好地模拟多器官功能衰竭临床病理生理改变，广泛应用在多器官功能衰竭的相关研究中。此次研究采用腹腔注射酵母多糖构建




图注：图 A 为免疫组化染色结果 (SP，× 400)；B 为荧光强度相对值统计结果，与正常组相比，$^aP < 0.05$；与模型组相比，$^bP < 0.05$

**图 4** ｜免疫组化检测各组大鼠肝组织中白细胞介素 10 的表达（SP，× 400）

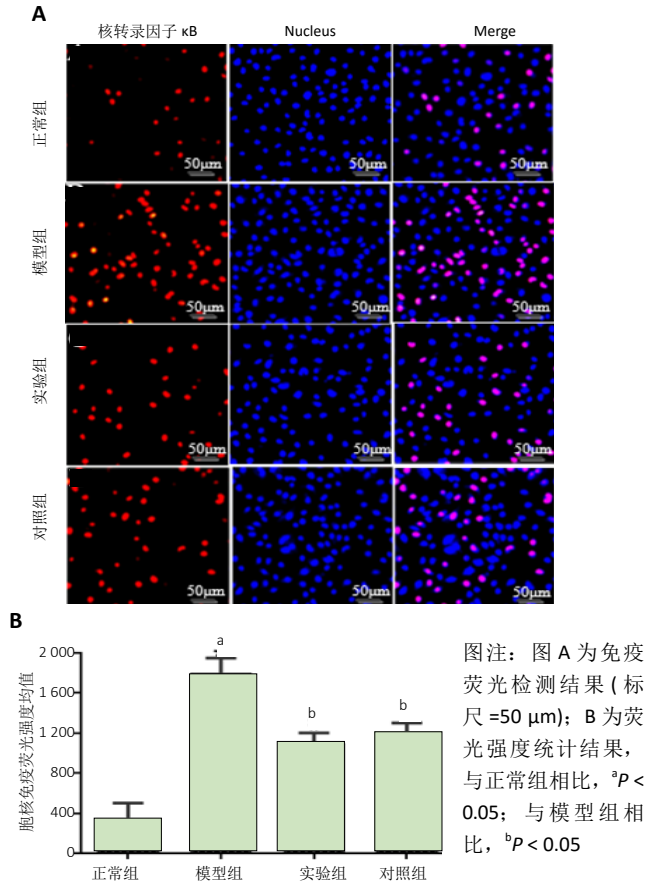
**Figure 4** ｜ **Immunohistochemical detection of the expression of interleukin-10 in the rat liver (SP, ×400)**




图注：图 A 为免疫组化染色结果 (SP，× 400)；B 为荧光强度相对值统计结果，与正常组相比，$^aP < 0.05$；与模型组相比，$^bP < 0.05$

**图 5** ｜免疫组化检测各组大鼠肝组织中肿瘤坏死因子 α 的表达 (SP，× 400)

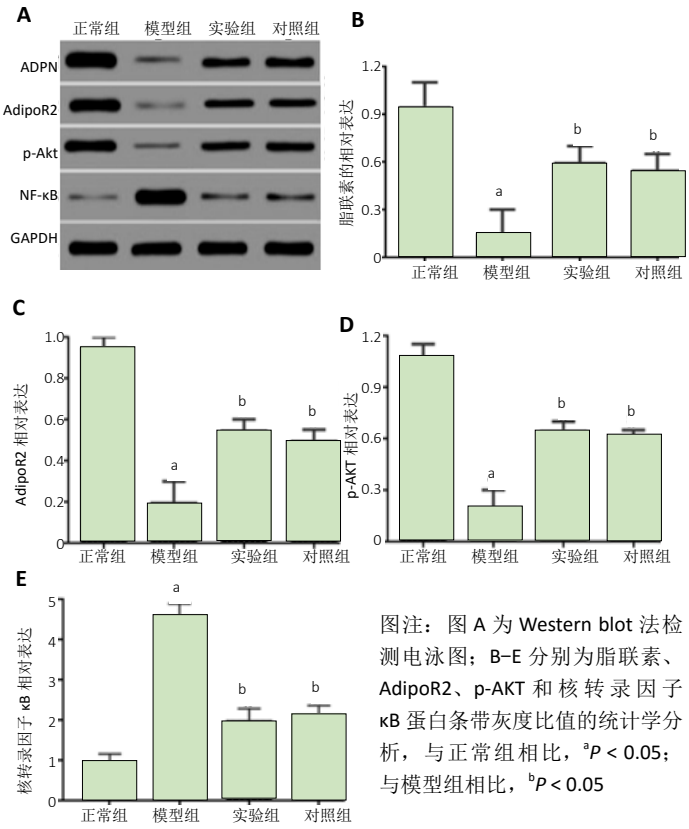
**Figure 5** ｜ **Immunohistochemical detection of the expression of tumor necrosis factor α in the rat liver (SP, ×400)**




图注：图 A 为免疫荧光检测结果 ( 标尺 =50 μm)；B 为荧光强度统计结果，与正常组相比，$^aP < 0.05$；与模型组相比，$^bP < 0.05$

**图 6** ｜免疫荧光检测各组大鼠肝组织中核转录因子 κB 的核移位

**Figure 6** ｜ **Immunofluorescence detection of nuclear factor κB in the rat liver**




图注：图 A 为 Western blot 法检测电泳图；B–E 分别为脂联素、AdipoR2、p-AKT 和核转录因子 κB 蛋白条带灰度比值的统计学分析，与正常组相比，$^aP < 0.05$；与模型组相比，$^bP < 0.05$

**图 7** ｜ Western blot 法检测各组大鼠肝组织中脂联素、AdipoR2、p-AKT 和核转录因子 κB 蛋白的表达

**Figure 7** ｜ **Western blot detection of the expression of adiponectin, AdipoR2, p-AKT and nuclear factor κB in the rat liver**

多器官功能衰竭模型后，肝功能检测以及苏木精－伊红染色病理结果显示模型组大鼠血清中丙氨酸转氨酶，天冬氨酸转氨酶，总胆红素明显升高，总蛋白明显降低，肝损伤组织病理明显。说明构建多器官功能衰竭模型成功。

医药界一直致力于针对多器官功能衰竭时肝损伤的药物设计以及开发。胸腺素 α1 作为一种增强机体免疫应答的生物活性因子，具有良好的抑制炎性因子的作用。YANG 等 [12] 研究表明胸腺素 α1 预处理能明显降低急性肝衰竭大鼠肝组织的细胞凋亡率，缓解其肝损伤程度。ZHOU 等 [13] 研究报道胸腺素 α1 的应用能明显增强大鼠的免疫能力，提高肝癌大

鼠的生存期。WANG 等[14]临床研究证明皮下注射胸腺素 α1 能明显抑制由婴儿肝炎综合征 EB 病毒 (EBV) 感染导致的肝脏衰竭患者血清中白细胞介素 6 及肿瘤坏死因子 α 水平。此次研究在成功构建多器官功能衰竭大鼠模型后，进行胸腺素 α1 干预后，实验组大鼠肝功能明显改善，肝组织病理评分明显降低，肝组织的细胞凋亡率明显降低，促炎分子肿瘤坏死因子 α 的表达明显降低，抑炎分子白细胞介素 10 的表达明显升高，说明胸腺素 α1 能明显改善多器官功能衰竭大鼠的肝损伤。

脂联素及其受体 AdipoR2 是定位于肝门静脉和肝窦内皮细胞的具有调控炎性因子的生物活性多肽。金凡等[15]研究表明在肝纤维化小鼠模型中，增强脂联素及其受体 AdipoR2 的表达能明显抑制小鼠肝脏的炎性反应，阻滞其肝脏纤维化进程。Akt 是核转录因子 κB 上游的关键调控蛋白[16]。核转录因子 κB 是定位在肝细胞胞核的炎性因子，研究表明活化后的核转录因子 κB 直接进入细胞核内，通过胞核调控介导相关靶基因的转录增强白细胞介素 1β、白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 的表达，诱发肝组织更大的级联炎性反应[17]。研究表明在肝损伤后，脂联素跟 AdipoR 发生特异性结合，开启 ADPN/Akt/NF-κB 信号通路，促进 Akt 的磷酸化，抑制下游核转录因子 κB 的核移位，进而减少促炎分子肿瘤坏死因子 α 的表达，抑制肝组织炎性反应的进程[18]。此次研究中免疫荧光以及 Wetern blot 结果表明，与模型组相比，实验组大鼠肝组织胞核内核转录因子 κB 的免疫荧光强度明显减弱，脂联素、AdipoR2、p-AKT 明显升高，核转录因子 κB 蛋白表达明显下降。说明胸腺素 α1 对肝脏的保护作用可能是与激活 ADPN/Akt 信号，而抑制核转录因子 κB 的核移位有关。

综上所述，胸腺素 α1 对酵母多糖诱导的多器官衰竭大鼠的肝脏有保护作用，其机制与 ADPN/Akt/NF-κB 信号通路信号通路有关，ADPN/Akt 被激活，抑制核转录因子 κB 的活化，从而减轻炎症反应。但胸腺素 α1 是否通过其他信号通路发挥对多器官功能衰竭大鼠肝组织的保护作用还待更深入的研究。

**作者贡献：**实验设计和实施为马明和、牛毅，文章完成为马明和。

**经费支持：**该文章接受了“青海省科技项目 (2015-ZJ-769)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突：**文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**机构伦理问题：**实验方案经青海大学附属医院动物实验伦理委员会批准 ( 批准号为 IACUC( 青 )2019-087)。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下进行所有的手术，并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

**文章查重：**文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

**文章外审：**文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

**文章版权：**文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明：**这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名－非商业性使用－相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

## 4 参考文献 References

[1] ARMSTRONG F, MCCURDY MT, HEAVNER MS. Synthetic Cannabinoid-Associated Multiple Organ Failure: Case Series and Literature Review. Pharmacotherapy. 2019;39(4):508-513.

[2] 扈红蕾 , 高健 , 郭文君 , 等 . 富氢水在黄曲霉毒素 B1 致大鼠肝损伤模型中的抗损伤作用 [J]. 生理学报 ,2019,71(5):725-731.

[3] 吴月 , 杨云梅 . 微 RNA-155 激动剂对脓毒症小鼠肝损伤时炎症应答的影响 [J]. 中华危重症医学杂志 ( 电子版 ),2019,12(4):235-239.

[4] RIZZO MR, FASANO R, PAOLISSO G. Adiponectin and Cognitive Decline. Int J Mol Sci. 2020;21(6):2010-2023.

[5] 赵文霞 , 张丽慧 , 崔健娇 , 等 . 化痰祛湿活血方干预非酒精性脂肪性肝炎大鼠 ADPN/AKT/NF-κB 通路的研究 [J]. 中国中西医结合杂志 , 2017,37(8):961-967.

[6] 杨雪亮 , 张凯 , 孔颖 , 等 . 胸腺素 α1 对急性肝衰竭大鼠血浆 TNF-α 与 IL-10 的影响 [J]. 西安交通大学学报 ( 医学版 ),2017,38(5):665-668.

[7] SAHAN FIRAT S, TEMIZ RESITOGLU M, GUDEN DS, et al. NF-κB activation mediates LPS-or zymosan-induced hy potension and inflammation reversed by BAY 61-3606, a selective Syk inhibitor, in rat models of septic and non-septic shock. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2019;46(2): 173-182.

[8] 朱平生 , 孟玉 , 付双楠 , 等 . CCl4 致大鼠肝损伤 24h 生物标志物水平的变化规律 [J]. 中国实验方剂学杂志 ,2019,25(2):124-128.

[9] WATANABE M, SUGAWARA A, NOGUCHI Y, et al. Jietacins, azoxy natural products, as novel NF-κB inhibitors: Discovery, synthesis, biological activity, and mode of action.Eur J Med Chem. 2019;178(6):636-647.

[10] HUANG GB, HU P, GAO JM, et al.Analysis of early treatment of multiple injuries combined with severe pelvic fracture. Chin J Traumatol. 2019; 22(3):129-133.

[11] CHUN S, KWON YB. The CCL2 elevation in primary afferent fibers produces zymosan-induced hyperalgesia through microglia-mediated neuronal activation in the spinal dorsal horn.Brain Res Bull. 2019; 149(7):53-59.

[12] YANG X, CHEN Y, ZHANG J, et al. Thymosin α1 treatment reduces hepatic inflammation and inhibits hepatocyte apoptosis in rats with acute liver failure. Exp Ther Med. 2018;15(4):3231-3238.

[13] ZHOU L, PAN LC, ZHENG YG, et al. Reduction of FoxP3+ Tregs by an immunosuppressive protocol of rapamycin plus Thymalfasin and Huaier extract predicts positive survival benefits in a rat model of hepatocellular carcinoma. Ann Transl Med. 2020;8(7):472-487.

[14] WANG YD, WU LL, MA LY, et al.Chronic active EBV infection associated with NK cell lymphoma and hemophagocytic lymphohistiocytosis in a 27-year-old woman: A case report. Medicine (Baltimore). 2019;98(2):1-7.

[15] 金凡 , 朱盼虎 , 李家明 , 等 . 吡啶查尔酮类化合物对小鼠肝纤维化的作用 [J]. 中国药理学通报 ,2019,35(8):1183-1184.

[16] ARAB HH, SALAMA SA, EID AH, et al. Targeting MAPKs, NF-κB, and PI3K/AKT pathways by methyl palmitate ameliorates ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. J Cell Physiol. 2019;234(12):22424-22438.

[17] MAHMOUD AM, DESOUKY EM, HOZAYEN WG, et al. Mesoporous Silica Nanoparticles Trigger Liver and Kidney Injury and Fibrosis Via Altering TLR4/NF-κB, JAK2/STAT3 and Nrf2/HO-1 Signaling in Rats. Biomolecules. 2019;9(10):528-549.

[18] ZHAO C, LIU L, LIU Q, et al. Fibroblast growth factor 21 is required for the therapeutic effects of Lactobacillus rhamnosus GG against fructose-induced fatty liver in mice. Mol Metab. 2019;29(11):145-157.