

# 茵陈提取物对肉鸡脂肪肝出血综合征发生率及 $PPAR-\gamma$ 、 $NF-\kappa B$ mRNA 表达的影响

刘春凌,王 鹏,徐 彤,利 凯\*,马旭平,马利芹  
(河北北方学院动物科技学院,河北张家口 075000)

**摘 要:**目前中草药防控肉鸡脂肪肝出血综合征 (FLHS) 缺乏确切理论依据,为了深入探讨茵陈提取物对 FLHS 的相应作用机制,研究不同剂量茵陈提取物对肉鸡  $PPAR\gamma$ 、 $NF-\kappa B$  表达和相关血清细胞因子的影响。100 只 7 日龄 AA 肉雏鸡随机分为 5 组:对照组、FLHS 模型组及茵陈提取物低、中、高剂量组。采用索氏化学抽提法测定肝脂率、腹脂重/活重和肝脏出血指数,HE 染色法观察肉鸡肝组织细胞,并统计 FLHS 发病率;ELISA 试剂盒测定肉鸡血清  $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$  血清含量,qRT-PCR 方法检测肉鸡脂肪  $PPAR\gamma$ 、肝脏  $NF-\kappa B$  mRNA 相对表达量。结果显示:茵陈提取物可使肉鸡肝脂率、腹脂重/活重、肝脏出血指数显著下降 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),变性、出血肝细胞区域和数量显著减少,鸡血清  $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$  含量以及  $NF-\kappa B$  mRNA 和  $PPAR\gamma$  mRNA 表达水平显著下降 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。研究表明,茵陈提取物可能通过抑制  $NF-\kappa B$ / $TNF-\alpha$  反馈通路和  $PPAR-\gamma$  mRNA 表达,显著抑制  $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$  等细胞因子含量,达到降低肝细胞脂肪变性,减少腹脂沉积及 FLHS 发病率的效果。

**关键词:**茵陈提取物;FLHS;肉鸡; $NF-\kappa B$ ;  $PPAR\gamma$

中图分类号 S853.7

文献标识码 :A

文章编号 :1004-6364(2020)06-58-07

## Effect of *Artemisia capillaris* Extract on Fatty Liver Hemorrhagic Syndrome Incidence and $PPAR\gamma$ , $NF-\kappa B$ mRNA Expression of Broilers

LIU Chunling, WANG Peng, XU Tong, LI Kai\*, MA Xuping, MA Liqin

(College of Animal Science and Technology, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000)

**Abstract:** The prevention and control of fatty liver hemorrhagic syndrome (FLHS) in broilers by Chinese herbal medicine lacks a definite theoretical basis. In order to further explore the mechanism of *Artemisia capillaris* extract on FLHS in broilers, the effect of different doses of *Artemisia capillaris* extract on the expression of  $PPAR\gamma$ ,  $NF-\kappa B$  genes and related serum cytokines in broilers were observed. One hundred 7-day-age AA broilers were randomly divided into control group, FLHS model group, *Artemisia capillaris* extract low, medium and high dose group. The liver fat rate, abdominal fat weight to body weight ratio and hepatic hemorrhage index were measured by Soxhlet chemical extraction. The liver cells of broilers were observed by HE staining. FLHS incidence was calculated, serum  $TNF-\alpha$  and  $IL-6$  were detected by ELISA kit, and the relative expression levels of  $PPAR\gamma$  in adipose tissue and  $NF-\kappa B$  mRNA in broiler

收稿日期:2019-11-19;修回日期:2020-01-02

基金项目:河北省二期现代农业产业体系瘦肉型肉鸡产业创新团队专项(HBCT2018150207);河北省农业关键共性技术攻关专项(18226618D);河北省河北北方学院青年基金项目(JYT2019019)

作者简介:刘春凌(1981-),女,硕士,讲师,主要从事临床兽医学研究,E-mail:lsdcr@163.com

\*通讯作者:利凯(1968-),男,博士,教授,主要从事动物病理生理学研究,E-mail:likaivet@163.com

liver were detected by qRT-PCR. The results showed that the liver fat rate, abdominal fat weight to live weight ratio, hepatic hemorrhage index, the area and number of degeneration, number of hemorrhagic hepatocytes, serum concentrations of TNF- $\alpha$  and IL-6, relative expression level of NF- $\kappa$ B mRNA and PPAR $\gamma$  mRNA of *Artemisia capillaris* extract groups were decreased significantly ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). It's indicated that *Artemisia capillaris* extract may inhibit the NF- $\kappa$ B/TNF- $\alpha$  feedback pathway and PPAR- $\gamma$  mRNA expression, decrease the serum concentrations of TNF- $\alpha$  and IL-6, relieve the degeneration of liver cells, reduce abdominal fat deposition and incidence of FLHS.

**Key words:** *Artemisia capillaris* extract; FLHS; broiler; NF- $\kappa$ B; PPAR $\gamma$

鸡脂肪酸合成的主要场所是肝脏,肉鸡品种人工选择导致肉鸡生长过快,极易暴发鸡脂肪肝出血综合征(Fatty liver hemorrhagic syndrome, FLHS)<sup>[1]</sup>。FLHS肉鸡肝脏内游离脂肪酸过多,容易氧化产生自由基,破坏细胞膜结构,导致肝细胞氧化造成肝损伤,腹脂沉积,死亡率提高,严重危害肉鸡养殖业发展<sup>[2-5]</sup>。肉鸡腹脂部位为过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (Peroxisome proliferators-activated receptors  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ) mRNA高表达的场所,PPAR $\gamma$ 是脂肪细胞分化的主要调节物,可通过调节NF- $\kappa$ B通路,诱导血清中IL-6和TNF- $\alpha$ 水平,影响炎症过程和脂质运输<sup>[6,7]</sup>。

茵陈为菊科植物茵陈蒿(*Artemisia capillaris*)的干燥地上部分,具有利胆、保肝等作用。研究发现茵陈提取物中主要活性成分可有效保护肝细胞膜,维护正常肝细胞,改善肝脏微循环,促进肝细胞再生,可降低总胆固醇(TC)、高脂血症(TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)、鸡肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )及肝内TG<sup>[8-10]</sup>。目前防治肉鸡FLHS缺乏确切有效的防治药物,多采用限饲或调整饲料配方等降低饲料能量的方法来降低发病率,或采用中草药方剂疏肝利胆降脂抑脂,但关于中草药方剂治疗缺乏相关理论依据<sup>[11,12]</sup>。本研究采用高脂饲料+雌激素注射诱发AA肉鸡FLHS,通过测定雏鸡脂肪组织PPAR $\gamma$ 、肝脏NF- $\kappa$ B mRNA表达量和血清促炎细胞因子TNF- $\alpha$ 、IL-6含量变化来研究不同剂量茵陈提取物对其影响,以期兽医临床肉鸡FLHS的药物治疗提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试验动物

100只1日龄AA肉雏鸡(雌雄各半),由河北北方学院实验动物中心提供。

#### 1.1.2 雌激素及主要试剂

兽用苯甲酸雌二醇注射液(兽药字(2016)

163232511, 2 mL/支,每毫升内含4 mg),购自上海华联制药有限公司;苏木素伊红染色试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司;动物组织总RNA提取试剂盒、反转录试剂盒、GoldView核酸染料I,均购自北京庄盟国际生物有限公司;TNF- $\alpha$ 、IL-6 ELISA检测试剂盒,购自北京索莱宝科技有限公司。

#### 1.1.3 茵陈提取物的制备

根据吴军等<sup>[13]</sup>方法提取茵陈提取物:新鲜茵陈2 000 g(购自安国药材市场),去除干叶和杂质,自来水洗净后风干,粉碎备用,加水10 L,加热浓缩浸提,浸提3次,合并滤液,电磁炉浓缩,再置于真空干燥箱中干燥,得浸膏,按100%浓度称重,计算提取比例。按照茵陈提取物:超纯水=1 g:10 mL比例溶解,灌封于无菌玻璃瓶中,蒸气灭菌30 min。

### 1.2 试验动物分组及处理

1日龄AA肉雏鸡采用基础日粮饲喂7 d,7日龄随机分为5组,每组20只。其中,对照组饲喂基础日粮;FLHS模型组饲喂肉雏鸡高脂日粮(15%牛油+85%基础日粮),肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液1.0 mL/kg(1次/d)<sup>[14]</sup>;茵陈提取物低、中、高剂量组,均饲喂肉雏鸡高脂日粮,分别肌内注射苯甲酸雌二醇注射液1.0 mL/kg(1次/d)+100 mg/kg茵陈提取物灌胃(1次/d)、苯甲酸雌二醇注射液1.0 mL/kg(1次/d)+200 mg/kg茵陈提取物灌胃(1次/d)、苯甲酸雌二醇注射液1.0 mL/kg(1次/d)+400 mg/kg茵陈提取物灌胃(1次/d)<sup>[13,14]</sup>。试验鸡分笼饲养,自由采食和饮水,试验持续28 d。基础日粮组成及营养水平见表1。

试验第28天,禁食12 h后,每组随机选取5只肉雏鸡,采用无抗凝剂真空采血管翅静脉采血3~4 mL,离心分离血清,分装,置于-20℃冰箱保存。剖开腹腔,取肝脏、腹部脂肪同一部位组织,用于肝脂率、腹脂重/活重和肝脏出血指数测定及常规肝脏组织病理切片的制作和qRT-PCR检测。

### 1.3 测定指标

#### 1.3.1 肝脂率、腹脂/活重及肝脏出血指数

采用索氏化学抽提法<sup>[16]</sup>测定肝脏中脂肪含量,本试验中肝脂率为肝脏干物质中脂肪含量。

表1 基础日粮组成与营养水平<sup>[15]</sup>

日粮组成(%)	1~21 日龄	22~28 日龄	营养水平(%)	1~21 日龄	22~28 日龄
玉米	59.63	61.18	粗蛋白	20.00	19.00
豆粕	26.00	20.00	钙	1.00	0.90
棉粕	5.00	8.00	总磷	0.66	0.63
菜粕	3.00	4.00	非植酸磷	0.45	0.40
豆油	2.00	3.00	赖氨酸	1.25	1.15
石粉	1.37	1.12	蛋氨酸+胱氨酸	0.90	0.80
磷酸氢钙	1.70	1.40	苏氨酸	0.80	0.72
食盐	0.30	0.30	代谢能(MJ/kg)	12.38	12.76
预混料	1.00	1.00	Cu(mg/kg)	12.20	14.30
			Fe(mg/kg)	185.70	159.20
			Zn(mg/kg)	15.80	28.40
			Mn(mg/kg)	29.40	48.50

注:每千克预混料分别提供:I 0.7、0.6 mg;Se 0.3、0.3 mg;V<sub>A</sub> 8 000、6 000 IU;V<sub>B1</sub> 100、500 IU;V<sub>B2</sub> 30、20 IU;V<sub>B6</sub> 0.5、0.5 mg;硫酸素 2.0、2.0 mg;核黄素 8.0、5.0 mg;烟酸 35、30 mg;V<sub>B12</sub> 3.5、3.0 mg;V<sub>B12</sub> 0.01、0.01 mg;泛酸 10.0、10.0 mg;叶酸 0.05、0.05 mg;生物素 0.18、0.15 mg;氯化胆碱 1.00、1.00 g;抗生素 0.10、0 g;抗氧化剂 0.4、0.5 g;Cu、Fe、Zn、Mn为实测值,其余为计算值。

肝脂率(%)=(提取前滤纸包干重-提取后滤纸包干重)/(提取前滤纸包干重-滤纸干重)×100%。

腹脂重/活重(%)=(腹部板油重+肌胃周围脂肪重)/活重×100%。

记录肝脏背面与腹面的出血点,肝脏出血指数按照 Wolford 评分法<sup>[17]</sup>表示(见表2)。

表2 肝脏出血指数及评定依据

肝脏出血指数	评定依据
0	无出血点
1	1~5个出血点
2	6~15个出血点
3	16~25个出血点
4	>25个出血点

#### 1.3.2 肝脏病理组织切片制作与 FLHS 发生率判断

按“1.2”取肝脏同位置组织各 0.5 cm<sup>3</sup>,置于 4%多聚甲醛固定液 48 h,常规石蜡包埋、切片、苏木素-伊红染色,显微镜观察其组织病变程度和脂肪沉积情况。

显微镜低倍镜下每个视野有 3 个以上肝细胞发生脂肪变性、肝脂率超过正常个体 20%及肝脏出血指数在 2~4 的个体,即判断肉鸡发生了 FLHS。

FLHS 发病率(%)=每组发生 FLHS 个数/每组屠宰样本个数×100%。

#### 1.4 肉鸡血清 TNF-α 和 IL-6 检测

TNF-α、IL-6 含量检测均按照 ELISA 检测试剂盒说明书进行。

#### 1.5 PPARγ 和 NF-κB 基因表达的实时定量 PCR 检测

应用动物组织总 RNA 提取试剂盒提取肝脏、脂肪组织总 RNA。按第一链 cDNA 反转录试剂盒操作步骤,以 AA 肉鸡肝脏、脂肪组织总 RNA 作为模板合成 cDNA。

以合成的 cDNA 为模板,qRT-PCR 分别扩增 β-actin、PPARγ 和 NF-κB 基因。根据 GenBank 中发表的基因序列,用 Primer Premier 6.0 软件设计引物,引物由华大基因合成,序列及片段长度见表3。PCR 反应体系为:2×SYBR qPCR Mix 10 μL, 50×Dye Rox 0.4 μL, cDNA Template 0.5 μL, primer F(10 μmol/L)0.4 μL, primer R(10 μmol/L)0.4 μL, ddH<sub>2</sub>O 补足至 20 μL。PCR 反应条件为:94℃ 3 min,94℃ 15 s,60℃ 30 s,72℃ 30 s,循环 45 次;延伸 72℃ 8 min。每个样品设 5 个重复,目的基因和 β-actin 的反转录产物 PCR 扩增体系相同,反应在实时定量 PCR 仪(T300 型,美国 ABI 公司)上进行,PPARγ 和 NF-κB mRNA 的表达以其与内参 β-actin 的相对表达量来计算。

表3 目的基因引物序列和预扩增片段长度

基因	序列号	引物序列(5'-3')	产物长度 (bp)
PPAR-γ	AF470456	F:AGCCTCTCTCTCTCCCTAT R:CCCACACACAGACATTCA	104
NF-κB	M86930	F:TCAACGCAGACCTAAAGACAT R:GCAGATAGCCAAGTTCAGGATG	162
β-actin	L09165	F:ACGTCGCACTGGATTTCGAG R:TGTCAGCAATGCCAGGGTAC	282

#### 1.6 统计与分析

数据均用 SPSS 19.0 统计分析软件和 Excel 进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析。所有 qRT-PCR 数据应用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 方法处理,所得结果应用 GraphPad Prism 5 软件进行统计学分析和图形的制作。

### 2 结果与分析

#### 2.1 茵陈提取物对肉鸡肝脏肝脂率、腹脂重/活重和肝脏出血指数的影响

茵陈提取物对肉鸡肝脏肝脂率、腹脂重/活重



和肝脏出血指数的影响见表4。由表4可知,随着茵陈提取物添加剂量的提高,肝脂率和腹脂重/活重下降较为显著。FLHS模型组与茵陈提取物组肝脂率极显著高于对照组( $P<0.01$ ),茵陈提取物中、高剂量组肝脂率极显著低于FLHS模型组和茵陈提取物低剂量组( $P<0.01$ ),茵陈提取物低剂量组与FLHS模型组间肝脂率差异不显著( $P>0.05$ ),茵陈提取物高剂量组肝脂率极显著高于茵陈提取物中剂量组( $P<0.01$ );茵陈提取物低、中剂量组腹脂重/活重显著高于对照组( $P<0.05$ ),而茵陈提取物高剂量组腹脂重/活重与对照组差异不显著( $P>0.05$ );茵陈提取物中、高剂量组腹脂重/活重显著低于FLHS模型组与茵陈提取物低剂量组( $P<0.05$ ),茵陈提取物高剂量组腹脂重/活重显著低于茵陈提取物中剂量组( $P<0.05$ );肝出血指数也随茵陈提取物添加剂量的提高有所下降,茵陈提取物中、高剂量组肝出血指数极显著低于FLHS模型组与茵陈提取物低剂量组( $P<0.01$ ),茵陈提取物中剂量组与茵陈提取物高剂量组间无显著性差异( $P>0.05$ ),茵陈提取物低剂量组与FLHS模型组无显著差异( $P>0.05$ )。

表4 茵陈提取物对肉鸡肝脏肝脂率、腹脂重/活重及肝脏出血指数的影响

组别	肝脂率(%)	腹脂重/活重(%)	肝出血指数
对照组	14.17±2.27 <sup>b</sup>	1.35±0.31 <sup>c</sup>	0.53±0.52 <sup>c</sup>
FLHS模型组	42.72±16.35 <sup>a</sup>	2.17±0.35 <sup>a</sup>	2.47±0.52 <sup>a</sup>
茵陈提取物低剂量组	35.51±0.74 <sup>a</sup>	1.98±0.36 <sup>a</sup>	2.13±0.74 <sup>a</sup>
茵陈提取物中剂量组	25.82±4.64 <sup>b</sup>	1.64±0.31 <sup>b</sup>	1.40±0.99 <sup>b</sup>
茵陈提取物高剂量组	19.74±5.39 <sup>c</sup>	1.46±0.29 <sup>c</sup>	1.33±0.90 <sup>b</sup>

注:同列数据肩标字母相同显示差异不显著( $P>0.05$ ),不同小写字母显示差异显著( $P<0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ ),下同。

## 2.2 茵陈提取物对肉鸡肝脏组织和FLHS发病率的影响

肉鸡肝脏病理组织学变化见图1。对照组肉鸡肝脏肝细胞排列整齐有规律,细胞呈多边形,核位于细胞中央;FLHS模型组肉鸡肝脏广泛出血,肝细胞颗粒变性或脂肪变性,变性部位通常为相连的十几个或几十个肝细胞,变性细胞崩解,边缘模糊,细胞核模糊或消失,颜色变浅,有些肝脏细胞质被脂滴所取代,细胞核被压缩在一角,面积变小,血细胞集聚区域较大;茵陈提取物低剂量组肉鸡肝脏坏死、崩解和变性肝细胞区域和数量较多,血细胞集聚区域较广泛;茵陈提取物中剂量组肉

鸡肝脏变性肝细胞区域和数量减少,但肝脏仍然有充血区域;茵陈提取物高剂量组则坏死、崩解和变性肝细胞数量更少,血细胞集聚区域明显缩小。病理组织学显示茵陈提取物可显著减少FLHS肉鸡变性肝细胞区域面积和数量,减少肝脏出血。

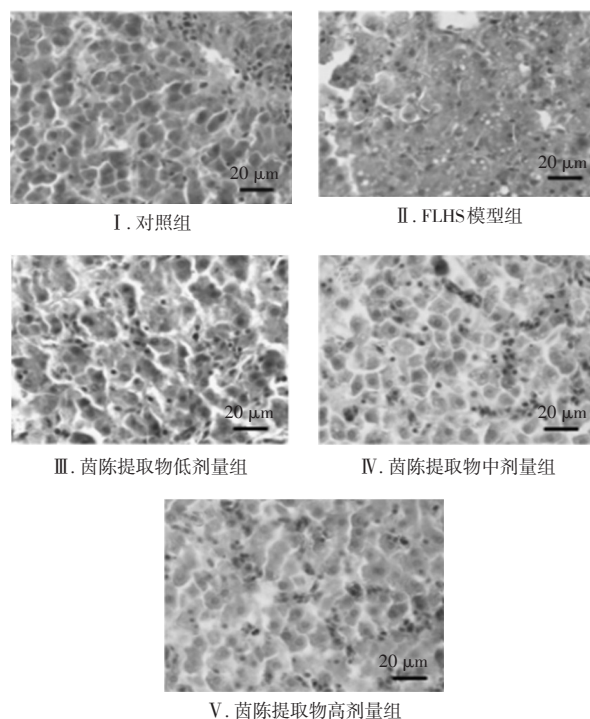


图1 肉鸡肝脏病理切片观察

FLHS模型组FLHS发病率为100%,而茵陈提取物低、中和高剂量组FLHS发病率分别为67%、46%和20%。其中,茵陈提取物高剂量组FLHS发病率比FLHS模型组下降了80%。结合肝脂率、腹脂重/活重及肝脏出血指数结果,茵陈提取物可显著降低肉鸡肝脏和腹部脂肪沉积,减少出血,使肉鸡FLHS发病率显著下降。

## 2.3 茵陈提取物对FLHS肉鸡血清TNF-α和IL-6含量的影响

茵陈提取物对FLHS肉鸡血清TNF-α和IL-6含量的影响见表5。由表5可知,随着茵陈提取物各组剂量的逐步提高,血清TNF-α和IL-6含量显著下降。茵陈提取物低剂量组TNF-α和IL-6含量与FLHS模型组差异不显著( $P>0.05$ );茵陈提取物中、高剂量组TNF-α含量极显著高于FLHS模型组( $P<0.01$ ),且茵陈提取物中剂量组TNF-α含量极显著高于茵陈提取物高剂量组( $P<0.01$ );茵陈提取物中、高剂量组IL-6含量显著低于FLHS

模型组( $P<0.05$ )。

表5 茵陈提取物对肉鸡血清TNF- $\alpha$ 和IL-6的影响

组别	TNF- $\alpha$ (ng/L)	IL-6(ng/L)
对照组	143.4 $\pm$ 20.52 <sup>b</sup>	54.77 $\pm$ 21.37 <sup>b</sup>
FLHS模型组	348.1 $\pm$ 19.33 <sup>a</sup>	135.80 $\pm$ 27.99 <sup>a</sup>
茵陈提取物低剂量组	312.5 $\pm$ 20.39 <sup>a</sup>	126.30 $\pm$ 18.73 <sup>a</sup>
茵陈提取物中剂量组	297.4 $\pm$ 27.03 <sup>b</sup>	80.24 $\pm$ 22.52 <sup>b</sup>
茵陈提取物高剂量组	201.4 $\pm$ 9.72 <sup>c</sup>	66.49 $\pm$ 22.91 <sup>b</sup>

## 2.4 茵陈提取物对肉鸡肝脏NF- $\kappa$ B mRNA和脂肪组织中PPAR $\gamma$ 表达量的影响

茵陈提取物对肉鸡肝脏NF- $\kappa$ B mRNA和脂肪组织中PPAR $\gamma$ 表达量的影响见图2、3。由图2可知,高脂日粮与雌激素可使肉鸡NF- $\kappa$ B mRNA表达量提高,而茵陈提取物可降低其表达水平。其中,FLHS模型组、茵陈提取物低剂量组、茵陈提取物中剂量组间NF- $\kappa$ B mRNA表达量差异不显著( $P>0.05$ ),茵陈提取物高剂量组NF- $\kappa$ B mRNA表达量极显著低于FLHS模型组( $P<0.01$ )。

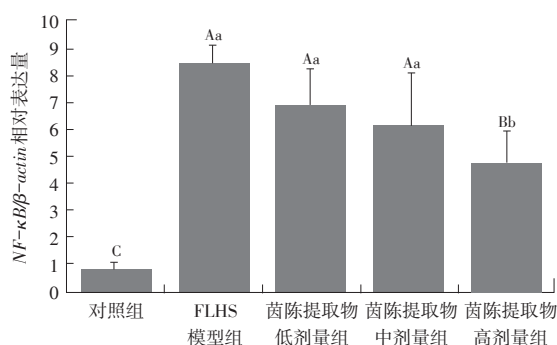


图2 茵陈提取物对FLHS肉鸡肝脏NF- $\kappa$ B mRNA表达的影响

由图3可知,茵陈提取物中、高剂量组PPAR $\gamma$  mRNA表达量极显著低于茵陈提取物低剂量组与FLHS模型组( $P<0.01$ ),但是茵陈提取物中、高剂量组间PPAR $\gamma$  mRNA表达量差异不显著( $P>0.05$ )。

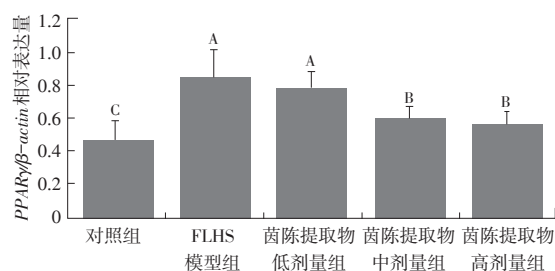


图3 茵陈提取物对FLHS肉鸡脂肪组织中PPAR $\gamma$  mRNA表达的影响

## 3 讨论

本研究结果表明,高脂饮食和雌激素可诱导肉鸡产生FLHS。高脂饲料会导致大量脂肪酸被肠黏膜吸收入血,肝脏摄取或合成过多游离脂肪酸,导致其在肝细胞内异常沉积<sup>[18,19]</sup>。茵陈蒿具有保肝利胆、抗氧化作用。沈飞海等<sup>[20]</sup>、钟成等<sup>[21]</sup>研究发现,茵陈蒿提取物可明显降低大鼠血糖和血脂水平,升高脂联素和高密度脂蛋白水平,纠正脂质代谢紊乱减轻肝脏组织脂肪浸润和变性,从而改善脂肪肝病。本研究在高脂日粮中添加茵陈提取物后,肉鸡FLHS相关指数——肝脂率、腹脂重/活重和肝脏出血指数均显示肉鸡肝脏和腹部脂肪沉积显著减少,肝脏出血减轻。同时,茵陈提取物组肉鸡肝细胞变性坏死面积明显减少,其中高剂量组肝脏脂肪变性和出血较中、低剂量组更轻微。因此可判断茵陈提取物可抑制肉鸡肝细胞脂肪变性和减少肝组织出血,降低腹部脂肪积聚,进而减少肉鸡FLHS发生率,且FLHS发生率随茵陈提取物添加剂量升高而降低,该结果与钟成等<sup>[21]</sup>对哺乳动物的研究结果一致。

通过qRT-PCR分析可以看出,FLHS模型组肉鸡肝脏组织NF- $\kappa$ B mRNA表达水平极显著提高。NF- $\kappa$ B可促进肝内单核细胞生成大量炎症介质如TNF- $\alpha$ 和IL-6<sup>[22,23]</sup>。TNF- $\alpha$ 、IL-6可致肝实质细胞变性、坏死,炎症细胞浸润<sup>[24-26]</sup>。陈少东等<sup>[27]</sup>研究发现,茵陈醇提取物能通过有效抑制NF- $\kappa$ B的活化,从而抑制TNF- $\alpha$  mRNA转录,显著治疗大鼠脂肪肝。本研究发现,在茵陈提取物作用下,FLHS肉鸡血清TNF- $\alpha$ 和IL-6水平均有不同程度下降,且高剂量组下降程度高于中、低剂量;肝脏组织NF- $\kappa$ B mRNA相对表达量也随茵陈提取物添加剂量的提高而逐渐减少,可能是茵陈提取物通过直接抑制肉鸡肝脏中的高脂日粮介导的NF- $\kappa$ B/TNF- $\alpha$ 反馈通路,减少TNF- $\alpha$ 、IL-6等生成,从而改善肝脏脂质代谢紊乱,显著减缓肝脏脂肪变性程度,减轻炎症和出血程度,促进肝脏功能恢复,减少腹部脂肪沉积,最终使肉鸡FLHS病理变化有所缓解。

PPAR $\gamma$ 在肥胖鸡脂肪组织和脂肪细胞系中高表达,参与脂肪细胞分化和糖脂代谢的调节<sup>[28-30]</sup>。PPAR $\gamma$ 基因有抑制鸡前脂肪细胞增殖、促进分化的作用,肉鸡腹部脂肪增厚,PPAR $\gamma$

mRNA表达提高<sup>[31,32]</sup>。而PPAR $\gamma$ 可被脂肪酸等配体激活,通过调控鸡脂肪细胞相关通路以促进脂肪细胞的分化,减少腹部脂肪<sup>[33]</sup>。本研究肉鸡FLHS模型脂肪组织中PPAR $\gamma$ 相对表达量较其他各组显著提高,茵陈提取物中、高剂量组PPAR $\gamma$  mRNA相对表达量极显著低于FLHS模型组而且极显著高于对照组,但茵陈提取物中、高剂量组间无显著性差异。可能是茵陈提取物通过降低脂肪组织脂肪沉积,从而降低PPAR $\gamma$  mRNA表达,分化肉鸡脂肪细胞,降低腹脂重/体重,肉鸡腹部脂肪随之显著减少。但随着添加剂量的提高,茵陈提取物对PPAR $\gamma$  mRNA抑制能力有限。另外,肉鸡腹部脂肪显著减少,可能是茵陈提取物能够促进PPAR $\gamma$ 激活,从而发挥调节作用。此作用机制及相关性还需进一步研究。根据上述结果,本试验中茵陈提取物最适添加剂量在200~400 mg/kg体重之间。

#### 4 结 论

茵陈提取物可能显著降低FLHS肉鸡PPAR $\gamma$ 、NF- $\kappa$ B mRNA的表达,降低血清TNF- $\alpha$ 和IL-6含量,减少肉鸡脂肪肝变性、出血及腹脂沉积,从而减少FLHS发生。本试验条件下,最适添加剂量为200~400 mg/kg体重。

#### 参考文献:

- [1] HOCKING P M. Unexpected consequences of genetic selection in broilers and turkeys: problems and solutions[J]. British poultry science, 2014, 55(1): 1-12.
- [2] KHAJALI F, FAHIMI S. Influence of dietary fat source and supplementary  $\alpha$ -tocopheryl acetate on pulmonary hypertension and lipid peroxidation in broilers[J]. Journal of animal physiology and animal nutrition, 2010, 94(6): 767-772.
- [3] WOLFORD J H, POLIN D. Lipid accumulation and hemorrhage in livers of laying chickens: a study on fatty liver-hemorrhagic syndrome (FLHS) [J]. Poultry science, 1972, 51(5):1707-1713.
- [4] WOLFORD J H, POLIN D. Induced fatty liver-hemorrhagic syndrome (FLHS) and accumulation of hepatic lipid in force-fed laying chickens[J]. Poultry science, 1974, 53(1): 65-74.
- [5] 郭小权,胡国良,曹华斌,等. 高能低蛋白日粮致脂肪肝出血综合征鸡抗氧化能力和肝损伤的研究[J]. 中国兽医学

报,2010,30(6):829-832.

- [6] 梁杨. 低硒对鸡脂肪组织中脂肪代谢与硒蛋白表达的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2014.
- [7] ZHANG Y, HU L, CUI Y, et al. Roles of PPAR $\gamma$ /NF- $\kappa$ B signaling pathway in the pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. PLoS One. 2014, 9(1): e87343.
- [8] CHOI E, PARK H, LEE J, et al. Anticancer, antiobesity, and anti-inflammatory activity of Artemisia species in vitro [J]. Journal of traditional chinese medicine, 2013, 33(1): 92-97.
- [9] SHAROPOV F S, SETZER W N. The essential oil of Artemisia scoparia from tajikistan is dominated by phenyldiacetylenes[J]. Natural product communications, 2011, 6(1): 119-122.
- [10] 刘莹. 茵陈蒿汤拆方对非酒精性脂肪性肝炎的正交实验研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2013,21(4):182-188.
- [11] 周雨菁. 甜菜碱及生物素对蛋鸡脂肪肝出血综合征肌肉载脂蛋白A-I、B-100表达的影响研究[D]. 南昌:江西农业大学,2011.
- [12] 孙翔晓,李朝云,杨小军,等. 日粮Cu、Fe、Zn、Mn水平对肉鸡生产性能的影响[J]. 西北农业学报,2010,19(3):31-35.
- [13] 吴军,尚瑞. 茵陈水提物对牛血清白蛋白诱导的肝损伤大鼠的保护作用研究[J]. 实用肝脏病杂志,2017,20(1):51-54.
- [14] 姜锦鹏,宁康建,吕锦芳,等. 实验性鸡脂肪肝出血综合征模型的建立与评价[J]. 中国实验动物学报,2012,20(3):68-73.
- [15] 梁俊荣,杨玉成. 茵陈对四氯化碳所致鸡肝损伤的保护作用[J]. 中兽医医药杂志,1998(3):9-10.
- [16] 方敏,丁小霞,李培武,等. 索氏抽提测定含油量的方法改良及其应用[J]. 中国油料作物学报,2012,34(2):210-214.
- [17] POLIN D, WOLFORD J H. Role of estrogen as a cause of fatty liver hemorrhagic syndrome [J]. Journal of nutrition, 1977, 107(5): 873-886.
- [18] 童红莉,田亚平,汪德清,等. 苦荞壳提取物对高脂饲料诱导的大鼠脂肪肝的预防作用[J]. 第四军医大学学报,2006, 27(10):883-885.
- [19] 何清华,周迎生,王征,等. 干预脂毒性改善糖尿病大鼠胰岛分泌及氧化应激的损害[J]. 中国实验动物学报,2009, 17(1):41-44.
- [20] 沈飞海,吕俊华,潘竞锵,等. 茵陈蒿提取物对胰岛素抵抗性大鼠脂肪肝调脂保肝作用及机制研究[J]. 中成药,2008, 30(1):28-31.
- [21] 钟成,潘竞锵,吕俊华,等. 茵陈蒿汤对代谢综合征-脂肪肝

- 大鼠增强胰岛素敏感性及抗脂肪肝作用[J]. 临床医学工程, 2012, 19(4): 520-523.
- [22] 王春妍, 范玉强, 迟宝荣, 等. 核因子- $\kappa$ B 及其下游因子 TNF- $\alpha$ 、Bcl-2 在急性肝损伤中的作用及机制[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(25): 2804-2808.
- [23] CHRISTMAN J W, LANCASTER L H, BLACK WELL T S. Nuclear factor  $\kappa$ B: a pivotal role in the systemic inflammatory response syndrome and new target for therapy[J]. Intensive care medicine, 1998, 24(11): 1131-1138.
- [24] ZENG C, XIAO J H, CHANG M J, et al. Beneficial effects of THSG on acetic acid-induced experimental colitis: involvement of upregulation of PPAR- $\gamma$  and inhibition of the NF- $\kappa$ B inflammatory pathway[J]. Molecules, 2011, 16(10): 8552-8268.
- [25] WANG Y, MOSER A H, SHIGENAGA J K, et al. Down-regulation of liver X receptor- $\alpha$  in mouse kidney and HK-2 proximal tubular cells by LPS and cytokines[J]. Journal of lipid research, 2005, 46(11): 2377-2387.
- [26] KIM M S, SWEENEY T R, SHIGENAGA J K, et al. Tumor necrosis factor and interleukin 1 decrease RXR $\alpha$ , PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , LXRA $\alpha$ , and the coactivators SRC-1, PGC-1 $\alpha$ , and PGC-1 $\beta$  in liver cells[J]. Metabolism: clinical and experimental, 2007, 56(2): 267-279.
- [27] 陈少东, 冯琴, 彭景华, 等. 茵陈醇提物抗游离脂肪酸对体外培养 HepG2 细胞脂毒性的作用及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(18): 2373-2378.
- [28] 王青. 枸杞多糖通过 PPAR $\gamma$  调节脂肪细胞功能的机制研究[D]. 银川: 宁夏医科大学, 2016.
- [29] 杨谷良, 潘敏雄, 向福, 等. PPAR $\gamma$  调控脂肪细胞增殖和分化机理研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(3): 272-278.
- [30] MENG H, LI H, ZHAO J G, et al. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma gene in various chicken tissues[J]. Domestic animal endocrinology, 2005, 28(1): 105-110.
- [31] 王丽, 那威, 王宇祥, 等. 鸡 PPAR- $\gamma$  基因的表达特性及其对脂肪细胞增殖分化的影响[J]. 遗传, 2012, 34(5): 454-464.
- [32] ROYAN M, MENG G Y, OTHMAN F, et al. Effects of conjugated linoleic acid, fish oil and soybean oil on PPARs ( $\alpha$  &  $\gamma$ ) mRNA expression in broiler chickens and their relation to body fat deposits[J]. International journal of molecular sciences, 2011(12): 8581-8595.
- [33] FUCHS C, CLAUDEL T, TRAUNER M. Bile acid-mediated control of liver triglycerides[J]. Seminars in liver disease, 2013, 33(4): 330-342.

