

英红九号红茶水提物通过调控 TNF- α /NF- κ B 信号通路缓解小鼠的急性酒精中毒

赖幸菲¹, 王琼², 黎秋华¹, 孙伶俐¹, 陈若虹¹, 文帅¹, 张镇标¹, 刘晓慧^{2*}, 孙世利^{1*}

(1. 广东省农业科学院茶叶研究所, 广东省茶树资源创新利用重点实验室, 广东广州 510640)

(2. 云南农业大学茶学院, 云南昆明 650201)

摘要: 该研究探讨了英红九号红茶水提物 (Yinghong NO.9 Black Tea Water Extract, YBTE) 缓解小鼠急性酒精中毒作用 (Acute Alcoholic Intoxication, AAI) 及其机制。采用 56°白酒稀释液一次性灌胃方法建立小鼠 AAI 模型, 记录翻正反射消失和恢复时间, 检测血清中谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 活性以及血清和肝脏中乙醇脱氢酶 (ADH) 的活性, 采用 Western blot 法测定肝脏中核因子- κ B (NF- κ B)、炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素-1 β (IL-1 β) 蛋白表达水平。结果表明, 不同剂量 YBTE 均能延长小鼠入睡时间, 也能缩短睡眠时间, 其中高剂量组小鼠入睡时间延长到 40.89 min ($p < 0.01$), 睡眠时间缩短为 166.18 min ($p < 0.01$)。与模型组相比, YBTE 可降低血清中 ALT 和 AST 的活性, 提高血清和肝脏中 ADH 的活性, 其中高剂量组 ALT 活性下降到 22.89 U/L ($p < 0.01$), AST 活性下降到 29.58 U/L ($p < 0.01$), 血清 ADH 提高到 43.43 IU/mL ($p < 0.01$), 肝脏 ADH 提高到 7.37 IU/mL ($p < 0.01$), 并能下调肝脏中 p-NF- κ B p65、TNF- α 和 IL-1 β 蛋白表达量。YBTE 具有良好的缓解 AAI 的作用, 其作用机制可能是促进酒精代谢和下调 TNF- α /NF- κ B 信号通路。

关键词: 红茶水提物; 急性酒精中毒; NF- κ B 信号通路; 炎症

文章编号: 1673-9078(2022)10-1-8

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.10.1387

Alleviating Acute Alcohol Intoxication in Mice using Yinghong No.9 Black Tea Extracts to Regulate the TNF- α /NF- κ B Signaling Pathway

LAI Xingfei¹, WANG Qiong², LI Qiuhua¹, SUN Lingli¹, CHEN Ruohong¹, WEN Shuai¹, ZHANG Zhenbiao¹, LIU Xiaohui^{2*}, SUN Shili^{1*}

(1. Tea Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangdong Provincial Key Laboratory of Tea Plant Resources Innovation & Utilization, Guangzhou 510640, China)

(2. College of Tea Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: To study the effects and mechanisms of Yinghong No.9 black tea water-extract (YBTE) for alleviating acute alcohol intoxication (AAI), mice were subjected to one-time intragastric administration of 56° Baijiu (Chinese Liquor) to establish an AAI model. Subsequently, the time required to lose and regain the righting reflex of the mice were recorded. The alanine transaminase (ALT) and glutamic

引文格式:

赖幸菲,王琼,黎秋华,等.英红九号红茶水提物通过调控 TNF- α /NF- κ B 信号通路缓解小鼠的急性酒精中毒[J].现代食品科技,2022,38(10):1-8

LAI Xingfei, WANG Qiong, LI Qiuhua, et al. Alleviating acute alcohol intoxication in mice using Yinghong No.9 black tea extracts to regulate the TNF- α /NF- κ B signaling pathway [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(10): 1-8

收稿日期: 2021-12-10

基金项目: 广东省农业科学院农业优势产业学科团队建设项目 (202126TD); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (32060702); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2021A1515010958; 2020A1515011266); 科技创新战略专项资金 (高水平农科院建设) 项目 (R2019PY-JX004); 清远市科技计划项目 (2020KJJH042); 湛江市科技计划项目 (2020A03014)

作者简介: 赖幸菲 (1987-), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 茶叶资源综合利用和茶叶功能成分与健康, E-mail: laixingfei@tea.gdaas.cn

通讯作者: 刘晓慧 (1985-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 茶叶品质化学和茶叶综合利用, E-mail: zjulxh@163.com; 共同通讯作者: 孙世利 (1979-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 茶叶功能成分与健康, E-mail: sunshili@zju.edu.cn

oxaloacetic transaminase (AST) activities in the serum and alcohol dehydrogenase (ADH) activity both in the serum and liver were measured. Moreover, the expression of the nuclear factor kappa B (NF- κ B), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-1 β (IL-1 β) proteins in the liver were measured using western blot analyses. The results showed that sleep onset latency increased and sleep duration decreased for mice treated with various doses of YBTE compared with the model group. More specifically, the sleep onset latency for the high-dose YBTE-treated group increased to 40.89 min ($p < 0.01$) and their sleep duration was 166.18 min ($p < 0.01$). Moreover, the serum activities of ALT and AST were significantly lower and the ADH activity in the serum and liver were both significantly higher in the YBTE-treated groups than in the control group. In particular, the ALT and AST activities in the high-dose group decreased to 22.89 U/L ($p < 0.01$) and 29.58 U/L ($p < 0.01$), respectively, and the ADH activity in the serum and liver increased to 43.43 IU/mL ($p < 0.01$) and 7.37 IU/mL ($p < 0.01$), respectively. Furthermore, the expression of p-NF- κ B p65, TNF- α , and IL-1 β in the liver were significantly down regulated. In conclusion, AAI can be effectively relieved with YBTE by promoting ethanol metabolism and down regulating the TNF- α /NF- κ B signaling pathway.

Key words: black tea water extract; acute alcoholism; NF- κ B signal pathway; inflammation

急性酒精中毒 (Acute Alcoholic Intoxication, AAI), 即醉酒, 是指短时间内摄入大量酒精, 体内酒精的吸收大于代谢, 被吸收的酒精进入到血液循环, 通过血脑屏障入脑而抑制中枢神经系统的兴奋性, 造成肝脏、心脏、肾脏等器官及消化、神经、免疫等系统的损伤的病理过程^[1]。急性酒精中毒造成机体损伤的作用机制很复杂, 多种途径参与损伤的发生, 主要的机制有大量的乙醇及其代谢产物乙醛对肝脏的损伤机制、氧化应激、炎症机制等^[2,3]。随着经济发展和人际交往的增加, 酒精的消费量日益增加, WHO 发布的 2018 年全球酒精与健康状况报告中指出, 2016 年约 300 万人死于饮酒, 占全球总死亡人数的 5.3%, 而中国是全球饮酒致死人数最多的国家, 酗酒、酒精依赖已经是当今我国乃至全世界日益严重的公共健康^[4]。因此, 安全、有效、无副作用的天然解酒产品的研发一直是当今世界持续关注的热点问题。

茶在中国最早是因其药用价值而出现的, 早在三国 (魏) 张揖《广雅》和唐代《采茶录》中就有记载茶能“醒酒”, 宋代杨士瀛《仁斋直指方》称茶能“解酒食之毒”, 明代李士材《本草图解》称茶能治“酒毒”^[5]。现代研究也表明茶叶^[6-9]及其活性成分茶多酚^[10,11]、儿茶素^[12,13]、黄酮类^[14]、L-茶氨酸^[15,16]、没食子酸^[17]等具有解酒或缓解酒精性肝损伤的作用。目前, 有关茶叶缓解急性酒精中毒的研究主要是绿茶类和黑茶类, 红茶类的研究则集中在对慢性酒精中毒的保护作用, 有关其缓解 AAI 的作用及机制的研究报道较少。

英红九号是广东省英德红茶的典型代表, 在广东省大面积推广种植, 英红九号红茶内含物丰富, 品质优异, 经济效益极高。有研究报道^[18], 英红九号红茶 (英红) 中的茶黄素和茶红素的含量均高于云南红茶 (滇红) 和祁门红茶 (祁红), 英红九号红茶还具有抗氧化^[18]、抗前列腺癌^[19]、抑制肥胖^[20,21]等功效, 而有关英红九号红茶缓解 AAI 的作用及机制的研究尚未

见有报道。

因此, 本实验采用一次灌胃过量白酒建立小鼠 AAI 模型, 通过灌胃不同剂量的英红九号红茶水提取物 (Yinghong NO.9 Black Tea Water Extract, YBTE), 观察给药后小鼠的翻正反射消失和出现的时间, 以及测定血清和肝脏中生化指标及相关炎症蛋白的表达, 探究英红九号红茶缓解 AAI 作用及分子机制, 以期为开发天然的红茶解酒护肝产品提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

英红九号 (*Camellia sinensis* var. *assamica* cv. Yinghong 9) 红茶, 由广东省农业科学院茶叶研究所基地提供。二锅头白酒 (56°), 北京坛井坊酒业有限公司; 谷丙转氨酶 (ALT/GPT) 试剂盒、谷草转氨酶 (AST/GOT) 试剂盒, 南京建成生物工程有限公司; 乙醇脱氢酶 (ADH) 酶联免疫分析试剂盒, 武汉基因美生物科技有限公司; BCA 蛋白定量测试盒, Thermo Fisher Scientific; TNF- α 、NF- κ B、NF- κ Bp65 抗体, Cell Signing Technology; IL-1 β 、 β -actin 抗体, Abcam 公司。

1.2 试验动物

小鼠规格: SPF 级雄性 ICR 小鼠, 7 周龄, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 生产许可证号: SCXK (京) 2019-0008。饲养条件: 小鼠饲养于 (25 \pm 2) °C 恒温环境中, 相对湿度为 50%~60%, 光照 12 h, 自由摄食饮水, 在 SPF 级动物房适应性饲养 1 周后进行试验。

1.3 仪器设备

TriStar LB941 多功能酶标仪, 德国 Berthold

Technologies 公司; HE 90 水平电泳槽、VE 186 转移电泳槽、Tanon-5200 化学发光凝胶成像系统, 上海天能科技有限公司; 高速冷冻离心机, Eppendorf; 1200 高效液相色谱仪, 安捷伦科技有限公司; JH-12-06 型紫外可见分光光度计, 上海菁华科技仪器有限公司; OHAUS 准微量电子天平, 奥豪斯仪器(常州)有限公司; ZMQS5001 型 Millipore 纯水仪, 密理博公司。

1.4 实验方法

1.4.1 YBTE 的制备

按茶水比 (m/V) 1:30, 沸蒸馏水浸提 2 次, 每次浸提 20 min, 浸提结束后过滤, 合并两次滤液, 旋转蒸馏浓缩, 冷冻干燥成冻干粉后置于干燥器内备用。

1.4.2 英红九号红茶生化成分的测定

水分含量: 按照国标“GB 5009.3-2016 食品中水分的测定”进行测定; 水浸出物含量: 按照国标“GB/T 8305-2013 茶水浸出物测定”进行测定; 茶多酚含量: 按照国标“GB/T 8313-2018 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法”进行测定; 游离氨基酸总量: 按照国标“GB/T 8314-2013 茶游离氨基酸总量的测定”进行测定; 可溶性总糖含量: 采用蒽酮-硫酸比色法测定; 黄酮类含量采用三氯化铝比色法进行测定; 茶黄素、茶红素和茶褐素的含量采用系统比色法进行测定。

儿茶素单体、没食子酸、咖啡碱含量参照国标“GB/T 8313-2018 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法”进行测定, 并进行了改进, 具体色谱条件如下: 色谱柱: phenomenex C_{18} 柱 (150×4.6 mm, 5 μ m); 检测波长 280 nm; 检测温度 28 $^{\circ}$ C; 流动相 A: 含 $\varphi=0.5\%$ 乙酸、 $\varphi=1\%$ 乙腈和 $\varphi=2\%$ 甲醇的水溶液, 流动相 B: 含 $\varphi=0.5\%$ 乙酸、 $\varphi=10\%$ 乙腈和 $\varphi=20\%$ 甲醇的水溶液; 洗脱步骤: 在 30 min 内, A 相由 72.5% 到 20%, B 相由 27.5% 到 80%, 30 min 后在 5 min 内, A 相由 20% 恢复到 72.5%, B 相由 80% 恢复到 27.5%, 流速 1.0 mL/min, 进样量 10 μ L。以外标法按峰面积进行定量。

1.4.3 小鼠急性酒精中毒模型建立

取小鼠 40 只, 随机分成 4 组, 每组 10 只, 实验前禁食 12 h, 自由饮水, 根据小鼠体重按 15 mL/kg 灌胃量, 分别以 56 $^{\circ}$ 白酒原液、56 $^{\circ}$ 白酒稀释液① (白酒: 蒸馏水, 3:1, V/V)、56 $^{\circ}$ 白酒稀释液② (白酒: 蒸馏水, 2:1, V/V) 和 56 $^{\circ}$ 白酒稀释液③ (白酒: 蒸馏水, 1:1, V/V) 灌胃小鼠, 观察各组小鼠的活动状态, 记录小鼠情况。以翻正反射是否消失作为小鼠醉酒与否的标准, 即小鼠灌胃白酒一段时间后, 使其背部朝下, 若小鼠保持此姿势 30 s, 则认为翻正反射消失, 即为

醉酒。选择小鼠醉酒率最高而死亡率最低的白酒浓度, 即为建立小鼠急性酒精中毒模型最适酒精浓度。

1.4.4 小鼠醉酒时间和醒酒时间的统计

取小鼠 40 只, 随机分成 4 组, 每组 10 只, 根据小鼠体重按量给药, 分别设为是模型组、YBTE 低剂量组 (500 mg/kg)、YBTE 中剂量组 (1 000 mg/kg) 和 YBTE 高剂量组 (2 000 mg/kg)。实验前禁食 12 h, 自由饮水, 0 h 时各给药组均一次性灌胃给药, 模型组灌胃等体积蒸馏水, 30 min 后各组小鼠均分别按最适酒精剂量灌胃白酒, 通过观察各组小鼠活动情况, 记录小鼠翻正反射消失的时间和翻正反射出现的时间。

1.4.5 YBTE 缓解小鼠急性酒精中毒的作用机制研究

1.4.5.1 小鼠分组与给药

取小鼠 50 只, 随机分成 5 组, 每组 10 只, 根据小鼠体重按量给药, 分别设为是正常组、模型组、YBTE 低剂量组 (500 mg/kg)、YBTE 中剂量组 (1 000 mg/kg) 和 YBTE 高剂量组 (2 000 mg/kg)。实验前禁食 12 h, 自由饮水, 按照 1.4.4 进行灌胃给药, 正常组灌胃等体积蒸馏水, 30 min 后除正常组外, 各组小鼠灌胃白酒, 正常组灌胃等体积蒸馏水, 末次灌胃结束 1 h 后麻醉小鼠摘眼球取血, 颈椎脱臼处死后解剖取肝脏组织。

1.4.5.2 小鼠血清中 ALT 和 AST 活性的测定

收集血液静置 30 min 后, 于 4 $^{\circ}$ C 温度下, 3 000 r/min 离心 20 min 分离得到血清, 按照试剂盒说明书的方法检测血液中 ALT 和 AST 的活性。

1.4.5.3 小鼠血清和肝脏中 ADH 活性的测定

采血完成后处死小鼠, 迅速解剖取出肝脏, 用预冷生理盐水漂洗并用滤纸吸干。剪取少量肝组织加入 9 倍体积预冷的生理盐水进行匀浆, 于 4 $^{\circ}$ C 温度下, 以 2 500 r/min 离心 15 min, 得到上清液。按照试剂盒说明书的方法测定血清和肝脏组织中 ADH 活力。

1.4.5.4 Western blotting 检测肝脏中炎症因子相关蛋白的表达

(1) 肝组织中总蛋白的提取及样品制备

取各组肝组织约 40 mg, 按照 1:10 (m/V) 比例, 加入 RIPA 裂解液, 置于匀浆机上充分匀浆, 匀浆结束后将匀浆管插入冰中静止 1 h, 收集匀浆液于 1.5 mL 离心管中, 于 4 $^{\circ}$ C 温度下, 13 200 r/min 离心 20 min 等到上清液置于 -80 $^{\circ}$ C 保存备用。

(2) 定量蛋白

按照 BCA 蛋白定量测试盒的说明书的方法对肝组织上清液进行蛋白定量。

(3) Western blot 免疫印迹实验

蛋白质样品电泳, 转膜, 5%脱脂奶粉在摇床上室温封闭 90 min, 裁剪目标条带, 选取目标蛋白的一抗于 4 °C 孵育 12 h, 洗膜, 孵育二抗, 洗膜, ECL 法显影, 用 Image J 软件分析条带灰度。

1.5 统计学分析

采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析 (one-way ANOVA), $p < 0.05$ 表示具有显著差异, $p < 0.01$ 表示具有极显著差异。

2 结果与分析

2.1 英红九号红茶生化成分分析

表 1 英红九号红茶生化成分含量 (%wt)

Table 1 Contents of the biochemical components in Yinghong NO.9 black tea (%wt)

测定指标	茶多酚	氨基酸	咖啡碱	黄酮类	可溶性糖	没食子酸	茶黄素	茶红素	茶褐素
含量	19.36±0.02	3.64±0.01	4.14±0.18	0.72±0.02	4.26±0.00	0.23±0.00	0.17±0.00	7.10±0.07	2.48±0.02

表 2 英红九号红茶儿茶素含量 (%wt)

Table 2 Contents of catechins monomers in Yinghong NO.9 black tea (%wt)

测定指标	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG	总儿茶素含量
含量	0.29±0.02	1.42±0.06	0.15±0.10	0.25±0.00	0.44±0.01	0.51±0.01	0.29±0.01	0.43±0.05	3.78±0.03

表 3 不同酒精度白酒对小鼠翻正反射的影响

Table 3 Contents of catechins monomers in Yinghong NO.9 black tea

组别	根据小鼠体重按量灌胃处理(15 mL/kg)	数量/只	翻正反射消失/只	死亡数量/只
1	56°白酒原液	10	10	10
2	56°白酒稀释液①	10	10	4
3	56°白酒稀释液②	10	10	0
4	56°白酒稀释液③	10	6	0

2.3 YBTE 对小鼠入睡时间和睡眠时间的影

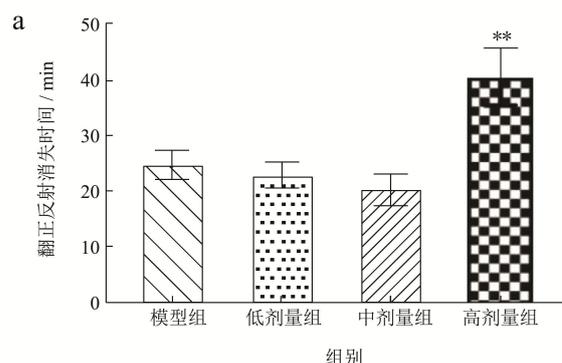
急性酒精中毒是指一次摄入过量酒精引起中枢神经系统由兴奋转为抑制的状态, 临床上表现为反应迟钝嗜睡, 严重者可出现昏迷、血压下降、呼吸困难甚至死亡^[22]。小鼠过量摄入乙醇后会逐渐出现后腿拖地爬行, 行动呆滞, 昏睡、翻正反射消失等现象, 以翻正反射是否消失作为小鼠醉酒与否的标准。有研究报道, 绿茶和普洱茶均可延长急性酒精中毒小鼠的入睡时间, 并能缩短其睡眠时间, 具有良好的抗醉解酒作用^[7]。本研究结果表明 (图 1a), 模型组小鼠翻正反射消失的时间为 24.89 min, YBTE 高剂量组能极显著地延长小鼠的入睡时间, 翻正反射消失的时间延长到 40.89 min ($p < 0.01$), 低剂量组和中剂量组则没有显著差异。从图 1b 的结果可知,

由表 1 的结果可知, 英红九号红茶茶多酚含量为 19.36%, 氨基酸含量为 3.64%, 咖啡碱含量为 4.14%, 黄酮类含量为 0.72%, 可溶性糖含量 4.26%, 没食子酸含量为 0.23%, 茶黄素含量为 0.17%, 茶红素含量为 7.10%, 茶褐素含量为 2.48%。从表 2 的结果可知, 英红九号红茶儿茶素的总量为 3.78%, 各儿茶素单体的含量表现为 EGC>GCG>EGCG>CG>GC~ECG>EC>C。

2.2 急性酒精中毒动物模型造模酒精浓度选择

由表 3 的结果可知, 56°白酒稀释液②处理组的小鼠均表现出翻正反射消失的现象, 且没有小鼠出现死亡, 因此选定该酒精浓度为急性酒精中毒动物模型最佳的造模浓度。

模型组小鼠翻正反射出现的时间为 166.18 min, YBTE 高剂量组显著地缩短小鼠的睡眠时间, 翻正反射出现的时间为 95.75 min ($p < 0.05$), 中剂量组的睡眠时间也有所缩短, 但未达到显著差异。可见, 英红九号红茶既能延长小鼠对乙醇的耐受时间, 也能缩短睡眠时间。



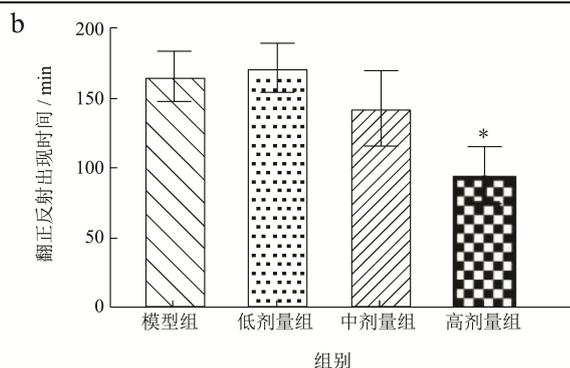


图1 YBTE对急性酒精中毒小鼠入睡时间和睡眠时间的影

Fig.1 Effects of YBTE on the time of losing righting reflex and sleeping time of mice with acute alcoholism

注: *与模型组相比差异显著 ($p < 0.05$), **与模型组相比差异极显著 ($p < 0.01$), 下同。

2.4 YBTE对小鼠血清中ALT和AST活性的影响

影响

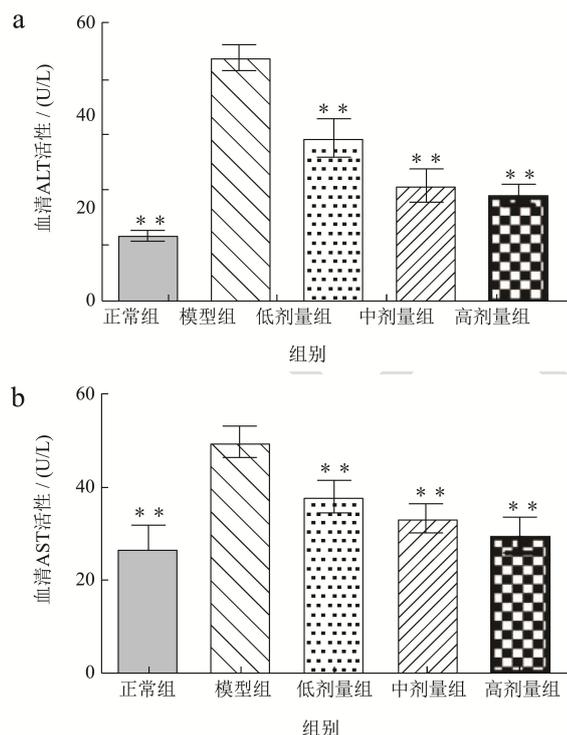


图2 YBTE对急性酒精中毒小鼠血清ALT和AST的影响

Fig.2 Effects of YBTE on ALT and AST levels in the serum from mice with acute alcoholism

AST和ALT是临床上判断肝损伤最重要的两项指标,当肝组织有损伤时,这两种酶就会释放到血清中,因此检测这两个指标在血清中的活性能判断肝脏的健康和功能情况。急性酒精中毒会引发肝损伤,血清中ALT和AST活性水平与肝脏损伤呈负相关性^[23]。由图2的结果可知,与正常组相比,模型组小鼠的摄

入乙醇后,血清ALT(52.57 U/L)和AST(49.67 U/L)的活性均极显著提高 ($p < 0.01$),说明乙醇导致了小鼠的肝脏功能受损。不同剂量YBTE预处理后,小鼠血清中ALT和AST的活性均显著地降低 ($p < 0.01$),且呈现剂量依赖效应,其中高剂量组小鼠的ALT活性下降到22.89 U/L,AST活性下降到29.58 U/L,这与Luczaj等^[24]的研究结果相似。以上结果表明英红九号红茶对乙醇引起的肝功能损伤具有一定保护作用。

2.5 YBTE对小鼠血清和肝脏中ADH活性的影响

影响

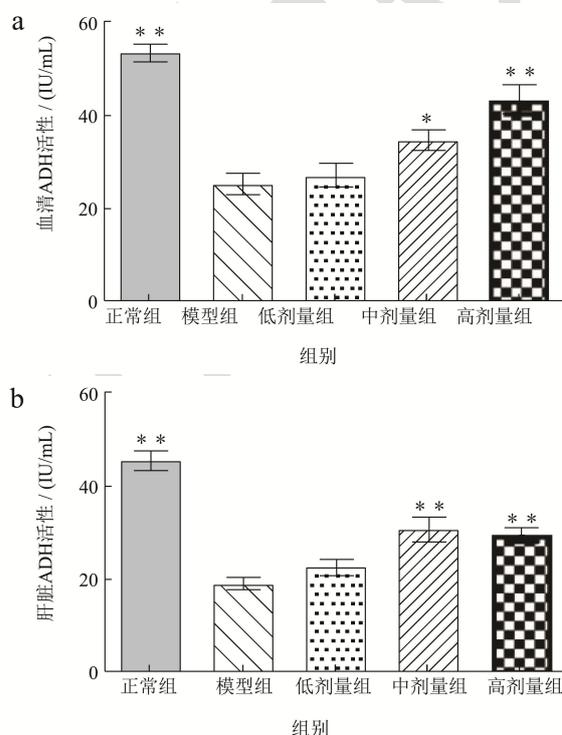


图3 YBTE对急性酒精中毒小鼠血清和肝脏ADH的影响

Fig.3 Effects of YBTE on ADH activity in the serum and liver from mice with acute alcoholism

ADH是乙醇代谢的关键酶之一,其活性决定了乙醇代谢速度的快慢^[25]。从图3a的结果可知,模型组小鼠血清中ADH的活性为25.24 IU/mL,显著低于正常组 ($p < 0.01$);与模型组相比,YBTE低、中、高剂量组血清ADH活性均有提高,其中,中剂量组为34.89 IU/mL,达到显著差异 ($p < 0.05$),高剂量组为43.43 IU/mL,达到极显著差异 ($p < 0.01$)。肝脏是乙醇在体内的主要代谢场所,其中90%~95%乙醇在肝脏进行氧化代谢,ADH起到关键的作用^[26]。由图3b的可知,模型组小鼠肝脏中ADH的活性为4.75 IU/mL,显著低于正常组 ($p < 0.01$);与模型组相比,YBTE低、中、高剂量组肝脏ADH活性均有提高,其中,

中剂量组提高到 7.64 IU/mL, 高剂量组提高到 7.37 IU/mL, 均具有显著统计学意义 ($p < 0.01$)。上述结果初步说明, 英红九号红茶可提高小鼠体内血清和肝脏 ADH 活性, 促进乙醇代谢。

2.6 YBTE 对小鼠肝脏中炎症因子相关蛋白表达影响

达影响

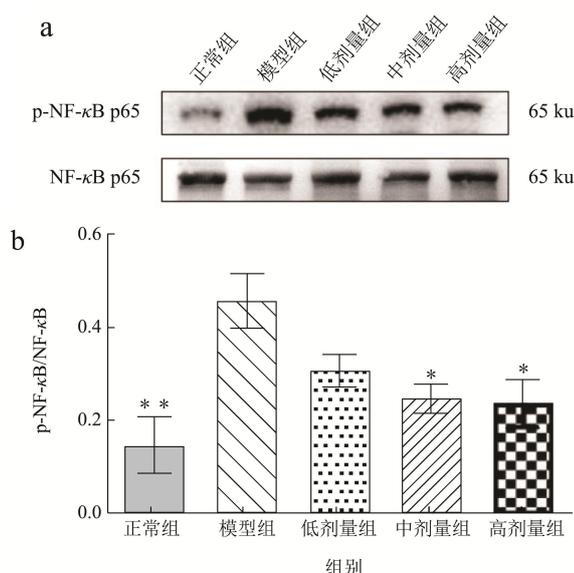


图4 YBTE 对急性酒精中毒小鼠肝脏中 p-NF-κB p65 的表达水平影响

Fig.4 Effects of YBTE on p-NF-κB p65 level in liver from mice with acute alcoholism

核因子-κB (Nuclear Factor Kappa B, NF-κB) 是机体炎症反应和免疫应答的重要调节因子, 同时也参与许多重要的生物过程的调控, 多种疾病的发病机制与 NF-κB 的异常活化有关^[27]。大量研究表明, 乙醇可激活肝组织中的 NF-κB 信号通路, 使 NF-κB 磷酸化入核, 激活多种促炎细胞因子 (TNF-α、IL-1β 等) 和 NO 合酶的表达, 引发肝细胞炎症、坏死, 甚至凋亡^[28-33]。因此, TNF-α/NF-κB 信号通路可能会成为缓解急性酒精中毒的重要靶点。有研究报道, 绿茶和青蒿组合提取物可通过调控 NF-κB 信号通路缓解酒精性胃炎^[34]。另有文献报道, 信阳红、白毫银针、君山银针、大红袍、茯砖茶、信阳毛尖六种茶叶水提取物均能显著上调 PPAR-α mRNA 相对表达水平, 并能明显降低 TNF-α mRNA 及 IL-1β mRNA 的相对表达量, 表明不同茶叶水提取物具有良好的保肝效果^[35]。此外, 有研究表明茶叶中的活性成分儿茶素及 EGCG 可通过抑制 NF-κB 信号通路缓解酒精性脂肪肝或乙醇诱导的肝功能障碍、氧化应激和炎症^[36,37], L-茶氨酸可通过调控 TNF-α/NF-κB 信号通路缓解酒精性肝损伤^[38]。

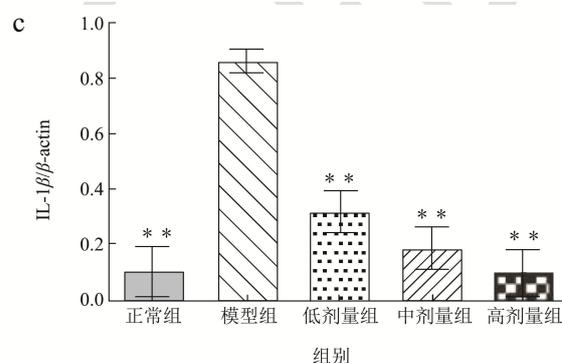
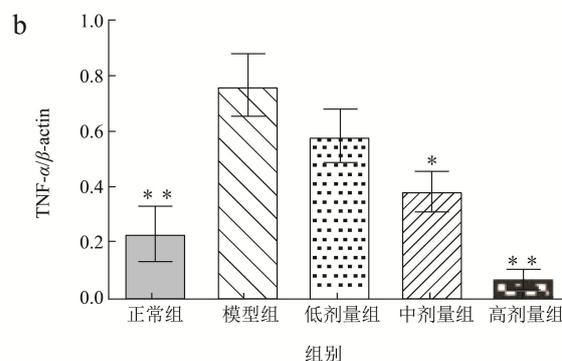
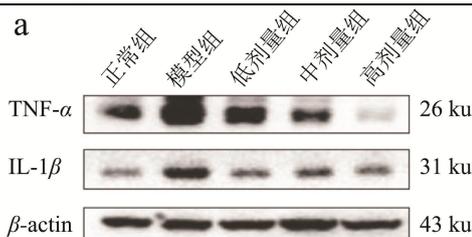


图5 YBTE 对急性酒精中毒小鼠肝脏中 TNF-α、IL-1β 的表达水平影响

Fig.5 Effects of YBTE on TNF-α and IL-1β level in liver from mice with acute alcoholism

本研究结果显示 (图 4), 与正常组相比, 模型组小鼠肝组织中 p-NF-κB p65 的表达量极显著增加 ($p < 0.01$), 表明乙醇可以激活 NF-κB 信号通路。与模型组比较, YBTE 低、中、高剂量组小鼠的肝组织的 p-NF-κB p65 的表达量明显下降, 中剂量组和高剂量组的表达水平达到显著差异 ($p < 0.05$)。图 5a、5b 和 5c 显示了 TNF-α 和 IL-1β 在小鼠肝脏中的表达情况。与正常组相比, 模型组小鼠肝组织中 TNF-α 和 IL-1β 的表达量极显著增加 ($p < 0.01$)。与模型组比较, YBTE 低、中、高剂量组小鼠的肝组织的 TNF-α 的表达量明显下降, 其中, 低剂量组和中剂量组达到显著差异 ($p < 0.05$), 高剂量组达到极显著差异 ($p < 0.01$); 不同剂量 YBTE 组中, IL-1β 的表达水平均极显著降低 ($p < 0.01$), 说明英红九号红茶可以剂量依赖地降低 p-NF-κB p65、TNF-α 和 IL-1β 的表达, 从而抑制炎症反应。

3 结论

综上所述, YBTE 能降低急性酒精中毒小鼠血清 ALT 和 AST 水平, 增强血清和肝脏中 ADH 的活性, 加快乙醇在体内的代谢, 并通过调控 NF- κ B 信号通路, 下调肝脏中 TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子表达, 抑制炎症反应, 从而起到具有良好的抗醉、解酒和护肝作用。本研究为红茶开发天然的解酒护肝产品提供理论基础, 但英红九号红茶中富含多种活性功能成分, 但其发挥缓解急性酒精中毒的作用的活性成分有待进一步的研究。

参考文献

- [1] Brown S S, Forrester J, Roscoe P. A controlled trial of fructose in the treatment of acute alcoholic intoxication [J]. *Lancet*, 1972, 2(7783): 898-899
- [2] Seitz H K, Bataller R, Cortez-Pinto, et al. Alcoholic liver disease [J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2018, 4(1): 16
- [3] Han H, He Y, Johnson H, et al. Protective effects of facilitated removal of blood alcohol and acetaldehyde against liver injury in animal models fed alcohol and anti-HIV drugs [J]. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 2019, 43(6): 1091-1102
- [4] 吴菲,倪照军,高雪娇,等.酒精依赖成瘾的机制及治疗研究进展[J].*中国医刊*,2021,56(11):1165-1169,1156
- [5] 林乾良.《茶疗专题讲座》第十七讲 有关解酒的茶疗[J].*茶叶*,1999,19(3):47-51
- [6] Xu X Y, Zheng J, Meng J M, et al. Effects of food processing on *in vivo* antioxidant and hepatoprotective properties of green tea extracts [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(12): 572
- [7] 杨希,普洱茶珍抗醉解酒作用实验研究[D].天津:天津医科大学,2016
- [8] 张国寿,徐晓斌,柴文卿,等.武夷岩茶对酒精性肝损伤大鼠的护肝作用[J].*武夷学院学报*,2020,39(3):1-4
- [9] Cao S Y, Li B Y, Gan R Y, et al. The *in vivo* antioxidant and hepatoprotective actions of selected Chinese teas [J]. *Foods*, 2020, 9(3): 262
- [10] Zhou Y, Tan F, Li C, et al. White peony (fermented *Camellia sinensis*) polyphenols help prevent alcoholic liver injury via antioxidation [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(11): 524
- [11] 张勇,李苗苗,华田苗,等.茶多酚对慢性酒精中毒大鼠肝损伤的保护作用[J].*中国应用生理学杂志*,2018,34(6):481-484, 529
- [12] Zhang X, Wu Z, Weng P. Antioxidant and hepatoprotective effect of (-)-epigallocatechin 3-O-(3-O-methyl) gallate (EGCG3"Me) from Chinese oolong tea [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(41): 10046-10054
- [13] 王玲,孙妮弋,李睿,等.表没食子儿茶素没食子酸酯对急性酒精中毒小鼠神经行为学改变的影响[J].*安徽医科大学学报*,2010,45(3):342-345
- [14] Liu B, Feng X, Zhang J, et al. Preventive effect of Anji white tea flavonoids on alcohol-induced gastric injury through their antioxidant effects in Kunming mice [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(4): 137
- [15] Li G, Ye Y, Kang J, et al. L-Theanine prevents alcoholic liver injury through enhancing the antioxidant capability of hepatocytes [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(2): 363-372
- [16] 侯善欣.L-茶氨酸对降低白酒醉酒度及其缓解肝损伤的效果研究[D].杭州:浙江工商大学,2016
- [17] Kartkaya K, Ayşegül Oğlakçı, Hakan Şentürk, et al. Investigation of the possible protective role of gallic acid on paraoxanase and arylesterase activities in livers of rats with acute alcohol intoxication [J]. *Cell Biochemistry and Function*, 2013, 31(3): 208-213
- [18] 戚康标,郑宇晴.英红九号红茶的品质特征及抗氧化活性研究[J].*广东茶业*,2014,5:15-21
- [19] Sun, S, S Pan, A Miao, et al. Active extracts of black tea (*Camellia sinensis*) induce apoptosis of PC-3 prostate cancer cells via mitochondrial dysfunction [J]. *Oncology Reports*, 2013, 30(2): 763-772
- [20] Liu, C, Y Guo, L Sun, et al. Six types of tea reduce high-fat-diet-induced fat accumulation in mice by increasing lipid metabolism and suppressing inflammation [J]. *Food & Function*, 2019, 10(4): 2061-2074
- [21] Pan, S, X Deng, S Sun, et al. Black tea affects obesity by reducing nutrient intake and activating AMP-activated protein kinase in mice [J]. *Molecular Biology Reports*, 2018, 45(5): 689-697
- [22] Abrahao K P, Salinas A G, Lovinger D M. Alcohol and the brain: neuronal molecular targets, synapses, and circuits [J]. *Neuron*, 2017, 96(6): 1223-1238
- [23] 夏祎稚,邵卫樑.药食两用的中药复合组合物对即时解酒保肝的作用研究[J].*现代食品*,2021,6:108-112
- [24] Luczaj W, Siemieniuk E, Roszkowska-Jakimiec W, et al. Protective effect of black tea against ethanol-induced oxidative modifications of liver proteins and lipids [J]. *Journal of Studies on Alcohol*, 2006, 67(4): 510-518
- [25] Cederbaum A I. Alcohol metabolism [J]. *Clinics in Liver*

- Disease, 2012, 16(4): 667-685
- [26] Amrani A, Boubekri N, Lassad S, et al. Alcohol induced hepato cardiotoxicity and oxidative damage in rats: the protective effect of n-butanol extract of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) [J]. Cardiovascular & Hematological Disorders Drug Targets, 2017, 17(1): 18-23
- [27] 陈博婷,薛挥.NF- κ B 的结构和功能研究及与酒精性肝病的关系[J].胃肠病学和肝病学杂志,2009, 18(1): 78-82
- [28] Kono H, Wheeler M D, Rusyn I, et al. Gender differences in early alcohol-induced liver injury: role of CD14, NF-kappaB, and TNF-alpha [J]. American Journal Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology, 2000, 278(4): G652-G661
- [29] Okvist A, Johansson S, Kuzmin A, et al. Neuroadaptations in human chronic alcoholics: dysregulation of the NF-kappaB system [J]. PLoS One, 2007, 2(9): e930
- [30] Nanji A A, Greenberg S S, Tahan S R, et al. Nitric oxide production in experimental alcoholic liver disease in the rat: role in protection from injury [J]. Gastroenterology, 1995, 109(3): 899-907
- [31] McClain C, Hill D, Schmidt J, et al. Cytokines and alcoholic liver disease [J]. Seminars in Liver Disease, 1993, 13(2): 170-182
- [32] Lawrence T, Gilroy D W, Colville-Nash P R, et al. Possible new role for NF-kappaB in the resolution of inflammation [J]. Nature Medicine, 2001, 7(12): 1291-1297
- [33] Yakovleva T, Bazov I, Watanabe H, et al. Transcriptional control of maladaptive and protective responses in alcoholics: a role of the NF-kappaB system [J]. Brain Behavior & Immunity, 2011, 25(Suppl 1): S29-S38
- [34] Kim Y S, Jeong M, Han Y M, et al. Combined extracts of artemisia and green tea, mitigated alcoholic gastritis via enhanced heat-shock protein 27 [J]. Korean Journal of Gastroenterology, 2018, 71(3): 132-142
- [35] 曹丹.不同茶类水提物对酒精性肝损伤的保护作用研究[D].长沙:湖南农业大学,2013
- [36] Arteel G E, T Uesugi, L N Bevan, et al. Green tea extract protects against early alcohol-induced liver injury in rats [J]. Biological Chemistry, 2002, 383(3-4): 663-670
- [37] Bharrhan, S, A Koul, K Chopra, et al. Catechin suppresses an array of signalling molecules and modulates alcohol-induced endotoxin mediated liver injury in a rat model [J]. PLoS One, 2011, 6(6): e20635
- [38] Sun L, Wen S, Li Q, et al. L-theanine relieves acute alcoholic liver injury by regulating the TNF- α /NF- κ B signaling pathway in C57BL/6J mice [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 86: 104699