

槲皮素对 ALD 中低分子量铁介导的溶酶体损伤的拮抗效应

李艳艳

(华中科技大学同济医学院营养与食品卫生系, 武汉 430030)

华中科技大学
HUAZHONG UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

槲皮素对ALD中低分子量铁介导的溶酶体损伤的拮抗效应

汇报人: 李艳艳
导师: 姚平 教授
单位: 华中科技大学同济医学院
营养与食品卫生系



主要内容

- 1 研究背景
- 2 研究目的
- 3 实验方法
- 4 实验结果
- 5 结论



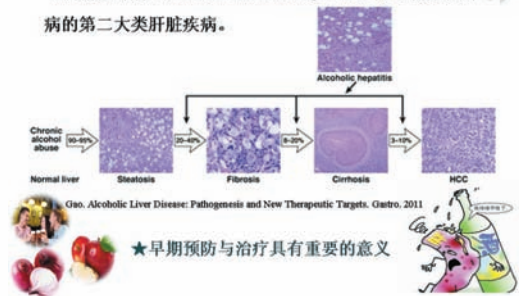
研究背景

- ◆ 酒精滥用—重要公共卫生问题之一。
- ◆ 酒精导致的全球疾病和损伤负担比例为 5.1%，且每年约330万人死于酒精滥用，占有死亡人数的 5.9%。
- ◆ 我国是酒品消费大国，过量饮酒成为当前最为突出的健康危险因素之一。



研究背景

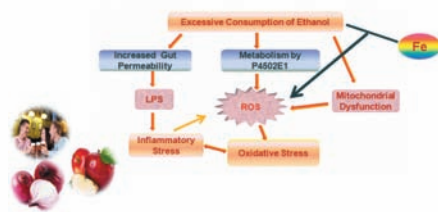
- ◆ 酒精性肝病 (alcohol liver disease, ALD) 是继传染性肝病的第二大肝脏疾病。



研究背景

→ ALD的发病机制

- ◆ 诱因单一，但发病机制异常复杂
- ◆ 氧化应激是ALD早期发病机制的中心环节



研究背景

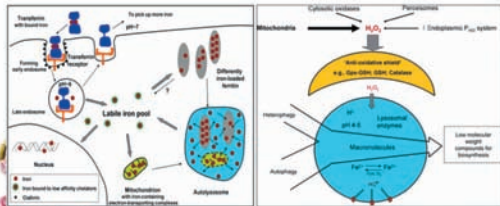
- ◆ ALD 常常伴随着肝脏铁过载及LIP (labile iron pool) 水平异常
- ◆ 过量的LIP活性铁(Fe²⁺)催化Fenton 反应产生氧化毒性最强的OH·



研究背景

→ 溶酶体内含有大量低分子质量活性铁

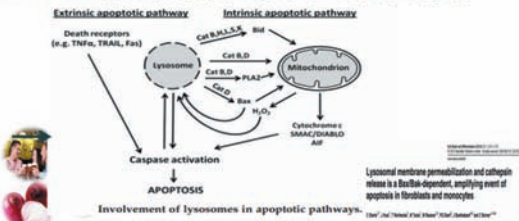
- ◆ 溶酶体负责降解铁蛋白、衰老线粒体等含铁大分子物质
- ◆ 溶酶体内PH值低，其内含有谷胱甘肽等大量还原性物质



研究背景

→ 铁催化产生的ROS是溶酶体膜透性 (Lysosomal Membrane Permeabilization, LMP) 改变的主要原因

→ LMP被认为是溶酶体-线粒体凋亡途径的上游机制



研究背景

→ 溶酶体内低分子质量活性铁是胞内LIP的主要来源，并在细胞氧化损伤和凋亡中起到关键性作用

Original Contribution

INTRALYSOSOMAL IRON: A MAJOR DETERMINANT OF OXIDANT-INDUCED CELL DEATH

Intralysosomal Iron Induces Lysosomal Membrane Permeabilization and Cathepsin D-Mediated Cell Death in Trabecular Meshwork Cells Exposed to Oxidative Stress

with L. Epstein, and Paloma R. Liton



溶酶体内活性铁在酒精性铁过载及其介导的潜在促氧化毒性和凋亡中扮演何种角色，目前尚未见直接相关的研究报道。

研究背景

槲皮素 接受性、安全性
◆ 广泛存在于植物界的黄酮类化合物

190mg/10g 具有强的抗氧化活性

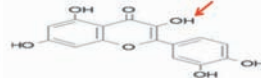


Quercetin protects human hepatocytes from ethanol-derived oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via the MAPK/Nrf2 pathways

Ping Yao^{1,2}, Andreas Nussler^{1,4}, Liegang Liu², Liping Hao^{1,2}, Fangfang Song², Anja Schirmeier¹, Natascha Nussler¹

研究背景

◆ 多酚羟基结构，整合铁离子，清除自由基



◆ 槲皮素-铁复合体通过GLUTs转运出细胞外



主要内容

- 1 研究背景
- 2 研究目的
- 3 实验方法
- 4 实验结果
- 5 结论

研究目的

1 探讨溶酶体内活性铁在酒精性肝铁过载氧化损伤和凋亡的重要作用

2 探讨槲皮素拮抗的相关机制



主要内容

- 1 研究背景
- 2 研究目的
- 3 实验方法
- 4 实验结果
- 5 结论



研究方法

Adult male
C57BL/6J mice



等能量配对喂养15周



两步胶原酶消化法提取小鼠原代肝细胞

研究方法

→ 指标测定

◆ 肝脏损伤

指标: 血清AST/ALT (酶动力学法)
ROS (DHE 荧光探针)
MDA (硫代巴比妥酸 (TBA) 比色法)
GSH (改良DTNB比色法)
凋亡 (TUNEL 染色法/ 流式细胞法)
Caspase-3 (Western Blot)

◆ 铁水平

指标: 总铁含量 (原子吸收法)
LIP铁 (原子吸收法)
溶酶体低分子量铁 (SSM法)

◆ 溶酶体及线粒体损伤

指标: LMP (AO 染色法)
MMP (TMRM 染色)
Cathepsin B 的释放 (Western Blot)
Cathepsin B 活性 (分光光度法)
细胞色素C 的释放 (Western Blot)

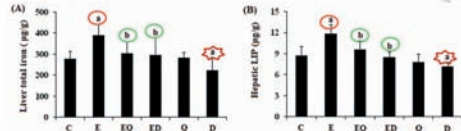


Fig.1 Quercetin decreased liver total iron, LIP and intralysosomal redox active iron as well as DFO. a: $P < 0.05$ versus the control; b: $P < 0.05$ versus the ethanol group.

实验结果

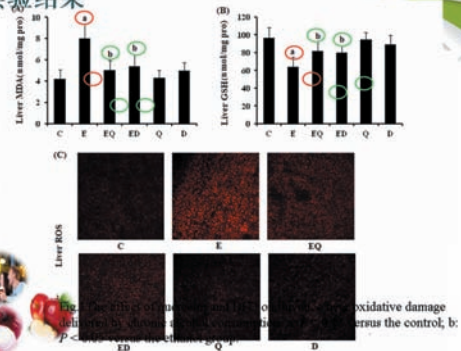


Fig.2 The effect of quercetin and DFO on the mice liver apoptosis delivered by chronic alcohol consumption. (TUNEL Assay) a: $P < 0.05$ versus the control; b: $P < 0.05$ versus the ethanol group.

主要内容

- 1 研究背景
- 2 研究目的
- 3 实验方法
- 4 实验结果
- 5 结论



实验结果

	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g)	Liver ratio to weight %
C	18.4 ± 1.1	28.9 ± 1.1	10.7 ± 2.2	4.6 ± 0.6
E	18.3 ± 1.2	<u>23.1 ± 2.1^a</u>	4.8 ± 1.8 ^a	<u>5.8 ± 0.5^a</u>
EQ	18.5 ± 1.2	<u>25.4 ± 1.8^b</u>	6.9 ± 1.9 ^b	<u>4.9 ± 0.4^b</u>
Q	18.4 ± 1.1	29.0 ± 1.5	10.6 ± 2.1	4.6 ± 0.3
ED	18.3 ± 1.1	<u>24.1 ± 2.1</u>	5.9 ± 1.9 ^b	<u>5.3 ± 0.4^b</u>
D	18.4 ± 1.1	26.8 ± 1.6	8.4 ± 1.7	4.7 ± 0.5



Table 1 Effects of quercetin on body weights and liver ratio to weight in the mice chronically fed ethanol for 15 weeks.

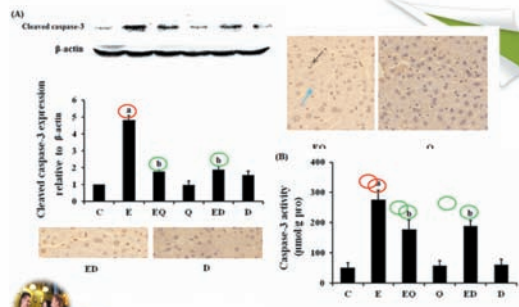
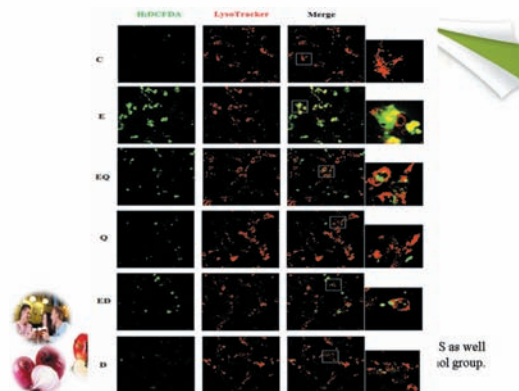


Fig.2 The effect of quercetin and DFO on the mice liver apoptosis delivered by chronic alcohol consumption. (TUNEL Assay) a: $P < 0.05$ versus the control; b: $P < 0.05$ versus the ethanol group.



As well as ethanol group.

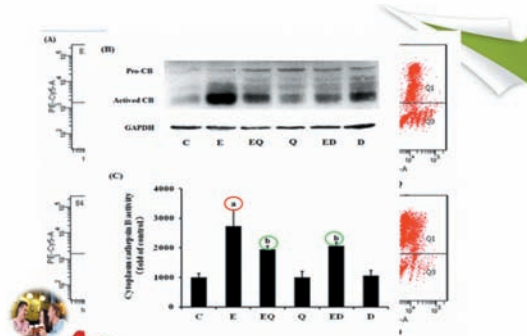


Fig. 4 Quercetin alleviated ethanol induced lysosomal membrane permeabilization (LMP), cathepsin B leakage and decreased cytoplasm cathepsin B activity as well as DFO. a: $P < 0.05$ versus the control, b: $P < 0.05$ versus the ethanol group.

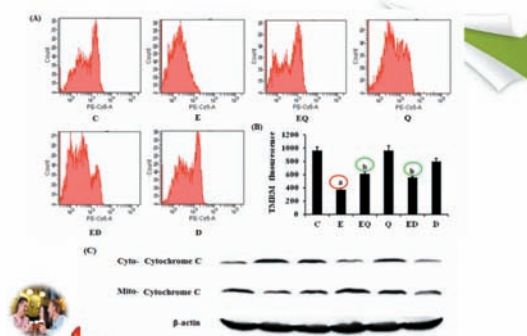


Fig. 5 Quercetin and DFO alleviated ethanol induced mitochondrial outer membrane permeabilization (MOMP). a: $P < 0.05$ versus the control, b: $P < 0.05$ versus the ethanol group.

进一步细胞实验证明溶酶体铁在酒精性肝细胞损伤中的作用

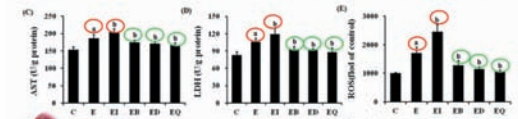
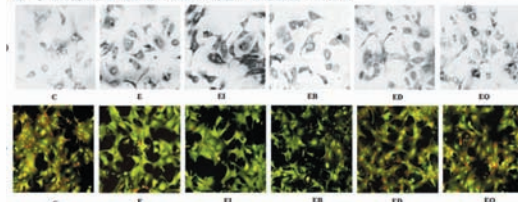


Fig. 6 The intralysosome redox-active iron played an important role in ethanol induced hepatic damage. a: $P < 0.05$ versus the control, b: $P < 0.05$ versus the ethanol group.

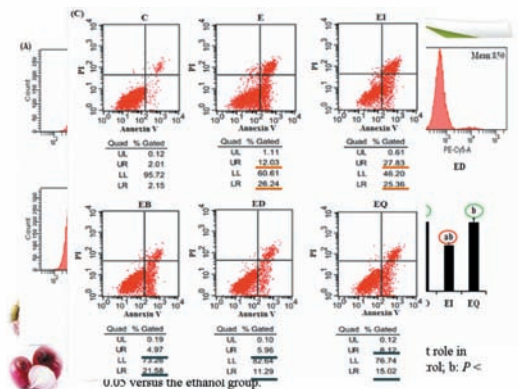


Fig. 7 The role of intralysosomal iron in ethanol induced apoptosis. a: $P < 0.05$ versus the ethanol group.

主要内容

- 1 研究背景
- 2 研究目的
- 3 实验方法
- 4 实验结果
- 5 结论

结论

- ◆ 溶酶体内活性铁在酒精诱导的肝脏氧化性损伤及凋亡中发挥关键性作用。
- ◆ 槲皮素通过降低溶酶体内活性铁介导的LMP来减轻溶酶体的损伤，进而在酒精性肝铁过载损伤中发挥有效的保护作用。
- ◆ 本研究为槲皮素防治ALD提供新的理论基础。

其他研究

- ◆ 槲皮素对溶酶体内铁来源与释放的调控机制，如Ferritin的turnover、TRPML1介导的溶酶体铁释放等
- ◆ 槲皮素拮抗酒精诱导的溶酶体自噬功能紊乱的调控机制

谢谢!

