

王雨欣,王倩,田颖.不同化学物质建立肝损伤动物模型的作用机制[J].中国比较医学杂志,2022,32(10):109-114.

Wang YX, Wang Q, Tian Y. Mechanisms of chemicals in establishing animal models of liver injury [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(10): 109-114.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.10.014

不同化学物质建立肝损伤动物模型的作用机制

王雨欣¹,王倩¹,田颖^{2*}

(1.扬州大学旅游烹饪学院,江苏扬州 225127;2.扬州大学公共卫生学院,江苏扬州 225009)

【摘要】 肝作为人体代谢的主要器官,有着解毒、分泌胆汁等重要功能。一旦肝受损,有可能导致肝硬化、肝衰竭等不良后果。肝损伤作为肝疾病研究的基础,一直以来广受科学研究的关注。目前已有多种化学物质可建立不同发病机制的肝损伤模型。本文简要介绍了氧化应激、干扰RNA合成、影响酶的活性、诱导胆汁淤积和促进肿瘤细胞生成这五种化学途径致动物肝损伤的作用机制,从而为肝损伤研究提供更多思路。

【关键词】 化学性肝损伤;动物模型;作用机制

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 10-0109-06

Mechanisms of chemicals in establishing animal models of liver injury

WANG Yuxin¹, WANG Qian¹, TIAN Ying^{2*}

(1. School of Tourism and Culinary Science, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China.
2. School of Public Health, Yangzhou University, Yangzhou 225009)

【Abstract】 As the main organ of human metabolism, the liver has important functions such as detoxification and bile secretion. Liver damage may lead to adverse consequences such as cirrhosis and liver failure. As the basis of liver disease research, liver injury has been widely subject to scientific research. Various chemicals are available to model liver injury with different pathogenesises. This review briefly introduces five mechanisms of animal liver injury caused by several chemical pathways, such as oxidative stress, interference of RNA synthesis, regulating enzyme activity, cholestasis induction, and promotion of tumor cell formation to provide ideas to study liver injury.

【Keywords】 chemical-induced liver injury; animal model; mechanism

肝作为人体最大的解毒器官,主要负责清除体内产生的代谢废物和进入体内的有害物质,对机体起着重要的保护作用。当肝受到损伤时,它的功能也会受到严重影响,导致过多的脂肪和有毒代谢物等的堆积,造成肝纤维化、肝衰竭等症状,甚至更严重的肝癌。化学性肝损伤是指由有毒化学物质以及过量的酒精等引起的肝损伤^[1],同时,剂量和时间的差异也会对肝损伤的程度产

生不同的影响。目前用于治疗化学性肝损伤的药物十分有限,过度使用护肝片等还可能会加重肝损伤^[2],因此,研究具有不同作用机制的化学性肝损伤动物模型,有助于开发更多保肝护肝的保健食品和治疗肝病的有效药物。本文从化学物质的作用机制出发,综述了不同作用机制的化学物质引起动物肝损伤的途径和优缺点,为后续研究提供了更多的可能性靶点。

【基金项目】 国家自然科学基金(81472963);江苏省人兽共患病学重点实验室“护馨基金”(HX2102)。

【作者简介】 王雨欣(1999—),女,本科,研究方向:营养与健康。E-mail:wangyuxinwyx@yeah.net

【通信作者】 田颖(1978—),女,博士,副教授,研究生导师,研究方向:营养与健康。E-mail:tianyingjob@126.com

1 氧化应激

1.1 四氯化碳

四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)作为工业上广泛使用的一种有机化学毒物,易被肝吸收,现已成为建立化学性肝损伤模型最为常用的化学物质^[3],其作用机制主要是通过氧化应激反应及其导致的炎症反应造成肝细胞损伤。 CCl_4 进入机体后,可经细胞色素酶 P450(cytochrome P450, CYP450)代谢成为三氯甲基自由基($\cdot\text{CCl}_3$)、三氯甲基过氧自由基($\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$)等活性氧自由基。活性氧(reactive oxygen species, ROS)大量累积,进而与肝细胞膜上的大分子共价结合,诱导肝细胞膜脂质过氧化,引起膜结构与功能受损,导致肝细胞发生氧化应激反应;其次, $\cdot\text{CCl}_3$ 会直接攻击肝细胞线粒体,抑制膜上钙泵的活性,导致膜内外钙离子浓度失衡,从而影响肝细胞的代谢功能,导致肝细胞坏死。在氧化应激状态下,超氧化物歧化酶(superoxide dismutases, SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)作为肝细胞内重要的抗氧化酶,会被大量消耗,含量显著下降。相反,脂质过氧化反应的终产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量会显著上升。 CCl_4 代谢产物可激活肝枯否细胞,释放大促炎因子^[4],刺激免疫细胞释放高迁移率族蛋白 B1(high mobility group protein B1, HMGB1)^[5],其主要受体之一 Toll 样受体 4(toll-like receptor 4, TLR4)被激活,使 IL-1 受体相关激酶(interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK)与髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)解离并进入胞浆内,进而激活肿瘤坏死因子受体相关因子-6(tumor necrosis factor receptor associated factor-6, TRAF-6)^[6],诱导 I κ B 激酶(I κ B kinase, IKK)复合物磷酸化,使核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路的关键蛋白分子 NF- κ B p65 被转运到肝细胞核内并与特定 DNA 序列结合,导致肝细胞产生炎症反应。NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)作为 NOD 样受体家族中最为重要的一员,可被 TLR4 信号激活形成 NLRP3 炎症小体,进而促进白细胞介素-18(interleukin 18, IL-18)等炎症因子的成熟与释放^[7]。进入肝细胞的 TLR4 信号诱导产生大量 NLRP3 炎症小体,进一步促进炎症因子释放,导致炎症级联放大反应^[8],造成炎症反应的

恶性循环,加剧肝细胞损伤与凋亡。此外, CCl_4 还可上调转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)的表达^[9],从而激活肝纤维化的关键细胞——肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs),进而刺激成纤维细胞生成细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度表达,诱导肝纤维化,导致肝损伤加重。

CCl_4 诱导的化学性肝损伤模型操作简单,成本低,能在较短时间内建立理想的化学性肝损伤模型。此外,其症状与人肝损伤较为相似,稳定性强。因此, CCl_4 是建立化学性肝损伤动物模型的首选化学物质。但 CCl_4 毒性较大,除肝外还会损伤其他脏器,特异性较低,因此 CCl_4 诱导的化学性肝损伤模型不适用于免疫机制等方面的研究^[10]。

1.2 硫代乙酰胺

硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)是工业上的杀菌剂,具有很强的肝毒性,其诱导肝损伤的机制与 CCl_4 相似,均可促使肝细胞发生氧化应激和脂质过氧化反应。TAA 经细胞色素 P450 家族成员 2E1(CYP2E1)活化,转化为 $\text{TASO}_2(\text{CH}_3\text{CSO}_2\text{NH}_2)$,可与磷脂酰乙醇胺脂等大分子共价结合,促进脂质过氧化,提高 MDA 水平并降低 SOD 和 GSH-Px 活性,白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等炎症因子大量释放,进而激活 NLRP3 炎症小体,同时,TLR4/NF- κ B 通路和 TGF- β 1 通路被激活,加剧炎症反应与肝纤维化进程。磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)通路与多种肿瘤密切相关,其活性异常可引起肿瘤细胞的增殖与迁移^[11]。TLR4 信号可激活 PI3K/Akt 通路,促进肿瘤细胞增殖,进而可能会演变成肝癌。另外, c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)信号通路可参与细胞凋亡、分化等过程^[12],其上游因子细胞凋亡信号调节激酶 1(apoptosis signal-regulated kinase 1, ASK1)对氧化应激高度敏感,过度活化后可激活 JNK 通路。过量的 TAA 可促进 ASK1 磷酸化,激活 JNK 信号通路,从而诱导抗凋亡基因 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)和促凋亡基因 Bcl-2 相关 X 蛋白基因(bcl-2-associated X protein, Bax)表达失衡^[13],导致 Bax 蛋白表达增加并向线粒体膜外移动,增加线粒体通透性,释放细胞色素 c,诱导线粒体功能障

碍与凋亡诱导分子释放,破坏细胞修复过程。

TAA 造模可重复性高且不易逆转,诱导的肝纤维化模型与人肝纤维化相似,适合用于筛选抗纤维化药物等。然而,目前没有对 TAA 造模的剂量研究,因此造模之前需要查阅大量文献并进行预实验来确定最佳剂量。

氧化应激是化学物质致肝损伤最为常见的作用机制,除 CCl_4 、TAA 外,甲苯二异氰酸酯 (toluene diisocyanate, TDI)^[14]、玉米赤霉烯酮 (zearalenone, ZEA)^[15] 等化学物质也可通过诱导氧化应激和脂质过氧化诱导肝细胞损伤。

2 干扰 RNA 合成

D-半乳糖胺 (D-galactosamine, D-GalN) 进入机体后可在半乳糖激酶和半乳糖-1-磷酸尿酰转移酶的作用下与三磷酸尿苷 (uridine triphosphate, UTP) 结合形成稳定的尿苷衍生物 UDP-D-GalN,即通过消耗肝中的 UTP 来抑制依赖 UTP 的 RNA 等大分子合成,导致肝细胞炎症和坏死^[16],是一种肝细胞磷酸尿嘧啶核苷干扰剂。同时, D-GalN 可促进 ROS 释放,刺激肝细胞发生氧化应激反应,诱导肝细胞膜脂质过氧化并干扰线粒体正常功能,进而促进炎症因子表达,引起肝细胞损伤^[17]。此外, D-GalN 还可诱导肥大细胞细胞质中钙离子水平的增加,从而破坏肝细胞膜结构,促使肝细胞凋亡。使用 D-GalN 造模时一般将其与脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 或肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 联合使用,增强其肝毒性。LPS 作为一种内毒素,可诱导单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) 的表达,从而特异性激活单核细胞、巨噬细胞等^[18],进而参与体内免疫应答与炎症反应^[19]。此外 LPS 还可以与血浆中的脂多糖结合蛋白 (lipopolysaccharide binding protein, LBP) 结合形成复合体,再与肝细胞表面的分化抗原簇基因 14 (cluster of differentiation 14, CD14)、骨髓分化因子 2 (myeloid differentiation factor 2, MD2) 受体结合,从而激活 TLR4。D-GalN/LPS 可识别并激活 TLR4/NF- κ B 通路,炎症因子表达量迅速升高并进一步激活体内的免疫应答,造成炎症因子级联放大,加重肝损伤,甚至导致重症肝炎等不可逆肝疾病。TNF- α 是一种炎症因子,肝受损后会大量释放,刺激机体发生炎症反应,并可直接破坏内皮细胞,导致肝细胞坏死^[20]。D-GalN 联合 TNF- α 主要通过内源性和外源性凋亡信号途径诱导化学性肝损伤^[21]。内源

性凋亡信号途径是通过激活 JNK 信号通路,增加 Bax 蛋白表达,引起线粒体膜通道孔通透性增加与细胞色素 c 的释放,诱导产生凋亡级联反应。外源性凋亡信号途径是将 TNF- α 与细胞表面 TNF- α 受体 1 (TNFR1) 结合,激活 Caspase-3,上调 Bax 基因,进而激活内源性凋亡途径^[22]。

D-GalN 是构建肝损伤和肝衰竭模型相对合适的化学物质,其特异性强,不会损害其他器官,但价格较高,且不同品系动物之间剂量差别较大,短期死亡率高,故应用范围小于 CCl_4 和 TAA。

此外, α -鹅膏蕈毒肽也可通过阻断 RNA 聚合酶从而抑制 RNA 合成^[23]。

3 影响酶的活性

人体代谢酒精途径主要有两种:酒精脱氢酶 (alcohol dehydrogenase, ADH) 途径和 CYP2E1 途径^[24]。大多数酒精在 ADH 的作用下利用烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+) 转化为乙醛并产生 NADH,进而转化为无毒无害的代谢产物从体内排出^[25];少量经 CYP2E1 代谢,从呼吸和尿液中排出,同时会累积少量 ROS。与 ADH 作用相同的酶还有过氧化氢酶 (catalase, CAT), CAT 也可以参与到酒精代谢过程中。长期或过量摄入酒精会降低 NAD 与 NADH 的比例 (NAD^+/NADH),导致肝中过度脂肪堆积,形成脂肪肝;同时, ADH 与 CAT 活性降低,导致 CYP2E1 代谢增加及 ROS 过量累积,促进肝细胞发生氧化应激反应,激活 TLR4/NF- κ B 通路,加快肝损伤进程。ROS 还会诱导线粒体细胞色素 c 的释放,通过合成凋亡小体,进而激活 Caspase-3,引起线粒体 DNA 降解和肝细胞凋亡。长期暴露于酒精还会改变肠道微生物群和通透性,肠道中的 LPS 进入肝,激活肝枯否细胞且与 TLR4 作用,加重炎症反应。在酒精的刺激下,巨噬细胞被激活,从而释放大量促炎因子和趋化因子来损害肝,增加硫氧还蛋白相互作用蛋白 (thioredoxin-interacting protein, TXNIP) 的表达,进而促进 Caspase-1 介导的细胞凋亡通路,诱导肝炎症反应^[26]。此外,酒精在代谢过程中会形成多种蛋白质加合物并影响内质网中的蛋白质折叠,在正常状态下,肝细胞通过激活未折叠蛋白来维持内质网稳态,而过多酒精的会降低肝酶的活性,从而导致错误折叠蛋白和未折叠蛋白的大量堆积,引起内质网应激反应 (endoplasmic reticulum stress, ERS)^[27]。当肝细胞处于内质网应激状态时,蛋白激酶 R 样内质网激酶 (protein kinase R-like ER kinase, PERK) 被

过量的未折叠蛋白激活,从而使真核起始因子 2 α (eukaryotic initiation factor 2 α , eIF2 α) 磷酸化,诱导活化转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 的转录,从而上调 C/EBP 环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白 (CHOP) 的表达^[28-29],进而诱发肝细胞凋亡级联反应,导致肝细胞凋亡^[30-31]。

酒精性肝损伤模型具有较高的造模率,对临床研究具有重要意义,可用于开发更多预防酒精性肝损伤的保健食品和药物。但酒精造模存在品系和性别差异,部分动物模型成本高,且缺乏统一的造模标准。

异烟肼的作用机制与酒精类似,通过抑制线粒体中酶的活性^[32],干扰正常的能量代谢,导致肝细胞凋亡,从而造成肝细胞损伤。

4 诱导胆汁淤积

胆汁淤积通常伴随着胆汁酸在肝中过度积累,最终导致肝受损,如果不及时治疗,会导致肝纤维化、肝硬化等严重后果。用于诱导胆汁淤积性肝损伤模型的主要化学物质是 α -萘异硫氰酸酯 (α -naphthyl isothiocyanate, ANIT),其诱导的模型与人胆汁淤积症临床病理相似度较高。ANIT 进入机体后可与谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 结合,由于结合不稳定,ANIT 结合物在胆管中分解,直接损伤胆管上皮细胞,引起胆管周围炎症,导致胆汁堵塞和淤积,最终导致肝细胞损伤。正常状态下,胆汁酸可激活法尼醇受体 (farnesoid X receptor, FXR),促进其与小异二聚体伴侣 (small heterodimer partner, SHP) 的结合,通过多种途径抑制胆汁酸的合成、转运、重吸收等^[33-34],从而阻止肝细胞进一步损伤。ANIT 可下调 FXR 表达,导致 FXR 与 SHP 结合减少,降低其负反馈抑制细胞色素 P450 家族成员 7A1 (CYP7A1) 基因转录的能力^[35],导致 CYP7A1 表达增加,进而加速胆固醇转化为胆汁酸,增加胆汁酸合成。钠离子牛磺酸共转运多肽 (Na^+ dependent taurocholate cotransporter, NTCP) 与阴离子转运多肽 (organic anion transporting polypeptides, OATPs) 是胆汁酸转运的主要转运蛋白,大约 90% 的胆汁酸都由 NTCP 转运^[36]。FXR 与 SHP 结合减少导致 NTCP 与 OATPs 表达减少,导致肝胆汁酸重吸收减少。人成纤维细胞生长因子 15/19 (fibroblast growth factor 15/19, FGF 15/19) 可通过抑制胆汁酸合成从而参与体内脂质、葡萄糖等调节过程^[37]。FXR 的下调可导致 FGF 15/19 的表达和分泌减少以及 CYP7A1 表

达的增加,进一步促进胆汁酸的合成^[38]。FXR 下调还可降低胆汁酸盐输出泵 (bile salt export pump, Bsep) 和多药耐药相关蛋白 2 (multidrug resistance-associated protein 2, Mrp2) 的表达,减缓胆汁酸的排泄与转运,导致胆汁酸在肝中淤积。细胞色素 P450 家族中 3A4 (CYP3A4)^[39]、胆汁酸辅酶 A 合成酶 (BACS) 等代谢酶可增加胆汁酸的亲水性并促进胆汁酸的排泄。FXR 下调会导致 CYP3A4、BACS 等代谢酶表达下降,对胆汁酸的解毒作用减弱,大量有毒胆汁酸淤积在肝中,最终导致严重的肝损伤。ANIT 还可以降低肝的抗氧化防御能力,促使中性粒细胞产生大量 ROS,导致肝氧化应激和炎症。

ANIT 诱导的胆汁淤积性肝损伤模型操作简便可靠,能很好地模拟了人胆汁淤积症,然而,ANIT 的灌胃给药对研究人员的操作水平有一定要求,且可能会对胃肠道造成损害,影响需口服或灌胃药物的疗效^[40]。

此外,由 3,5-二乙氧基羰基-1,4-二氢-2,4,6-三甲基吡啶 (3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine, DDC)^[41] 诱导的胆汁淤积性肝损伤模型也常用于人胆汁淤积症的研究。

5 促进肿瘤细胞生成

二乙基亚硝胺 (N-nitrosodiethylamine, DEN) 是一种广泛存在于自然界的致癌物质,具有高度活性,对人和动物都有致癌性,且对肝具有特异性,经口摄入可能造成严重的肝损伤^[42],低剂量 DEN 可改变肝结构并诱导肝纤维化,同时可促进肝癌的典型特征,如肝细胞增生、癌细胞增殖等,因此 DEN 常用于建立动物肝纤维化和肝癌模型。DEN 在体内主要被 CYP2E1 羟基化,然后分解成具有高亲电活性的碳正离子等,导致 DNA 烷化损伤和肝细胞损伤,进而可能诱发癌症^[43]。由 CYP3E1 代谢过程中释放的大量 ROS 则会导致氧化应激损伤。DEN 代谢同时产生的重氮化合物在肝细胞 DNA 合成过程中与碱基结合,引起碱基错配或转录异常,导致 DNA 突变和肿瘤细胞生成。谷胱甘肽 S-转移酶 P1 (glutathione S-transferase P1, GSTP1) 是谷胱甘肽巯基转移酶家族的成员,可通过代谢多种致癌化合物来避免细胞 DNA 损伤^[44-45]。抑癌基因启动子区 CpG 岛的高甲基化会导致染色质空间结构的改变,从而阻止基因转录,并使抑癌基因沉默^[46]。DEN 可诱导 Gstp1 启动子高甲基化,降低 Gstp1 表达,使其代谢 DEN 化合物能力下降,同时抑癌基因沉默,导致肝细胞 DNA 严重受损以及肿瘤细胞大量生成。

信号传导与转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 是 IL-6/STAT3 通路中的一个重要信号因子, 可经 IL-6 激活后进入细胞核内与 DNA 应答元件结合, 调节细胞内 DNA 的转录和活性, 上调 Bcl-2 等基因表达, 从而促进肿瘤细胞增殖以及抑制肿瘤细胞凋亡^[47]。核受体共刺激因子 5 (nuclear receptor coactivator 5, NCOA5) 是一种核受体辅助调节因子, 能抑制肝炎的相关因子释放, 进而抑制其下游的 STAT3 通路^[48]。DEN 可抑制 NCOA5 表达, 随后上调 STAT3 表达, 激活 IL-6/STAT3 信号通路, 导致炎症因子大量释放, 同时 Bcl-2 等基因表达增加, 导致大量肿瘤细胞增殖且凋亡受到抑制, 促使肝癌发生。

DEN 常用于诱导原发性肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 模型, 便于更好地了解人 HCC, 剂量、暴露时间等均会影响 DEN 诱导肝损伤的特征。DEN 肝癌造模时间较长, 死亡率高, 毒性大, 实验操作时需要注意人员安全问题。

类似机制的化学物质还有黄曲霉素 B1 (aflatoxin B1, AFB1)^[49], 也可以通过改变 DNA 结构从而促进肿瘤细胞的增殖与迁移, 进而引发肝癌。

6 总结与展望

本文主要介绍了 CCl₄、TAA、D-GalN、酒精、ANIT 和 DEN 致动物肝损伤的作用机制, 主要有以下 5 种: (1) 氧化应激; (2) 干扰 RNA 合成; (3) 影响酶的活性; (4) 诱导胆汁淤积; (5) 促进肿瘤细胞生成。肝损伤是许多肝疾病研究的起点, 了解不同化学物质致肝损伤的作用机制, 可以探索更多有效治疗化学性肝损伤的活性物质。以上 5 种作用机制都可以作为化学性肝损伤研究的重点, 可以为研究保肝护肝的保健食品和治疗药物提供更多选择。

参考文献:

- [1] Wu Y, He Y, Wang R, et al. Preventive effect of flavonoid extract from the peel of Gonggan (*Citrus reticulata* blanco var. Gonggan) on CCl₄-induced acute liver injury in mice [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 5111-5121.
- [2] 于红红, 高晓燕. 护肝片对药物性肝损伤的防治作用 [J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(18): 2271-2274.
- [3] Tan HY, San-Marina S, Wang N, et al. Preclinical models for investigation of herbal medicines in liver diseases: update and perspective [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 4750163.
- [4] Li S, Wang CX, Liu NZ, et al. Anti-inflammatory effects of propofol on lipopolysaccharides-treated rat hepatic Kupffer cells [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71(2): 845-850.
- [5] Zhang H, Yang N, Wang T, et al. Vitamin D reduces inflammatory response in asthmatic mice through HMGB1/TLR4/NF-κB signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 2915-2920.
- [6] Min Y, Kim MJ, Lee S, et al. Inhibition of TRAF₆ ubiquitin-ligase activity by PRDX1 leads to inhibition of NF-κB activation and autophagy activation [J]. *Autophagy*, 2018, 14(8): 1347-1358.
- [7] Alonso-Pérez A, Franco-Trepal E, Guillán-Fresco M, et al. Role of toll-like receptor 4 on osteoblast metabolism and function [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 504.
- [8] Hayden MS, Ghosh S. NF-κB, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions [J]. *Genes Dev*, 2012, 26(3): 203-234.
- [9] Wang H, Che J, Cui K, et al. Schisantherin A ameliorates liver fibrosis through TGF-β1 mediated activation of TAK1/MAPK and NF-κB pathways *in vitro* and *in vivo* [J]. *Phytomedicine*, 2021, 88: 153609.
- [10] 吕超, 石清兰, 覃倩, 等. 小鼠实验性肝损伤模型的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(1): 107-113.
- [11] Wang Y, Chu F, Lin J, et al. Erianin, the main active ingredient of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl, inhibits precancerous lesions of gastric cancer (PLGC) through suppression of the HRAS-PI3K-AKT signaling pathway as revealed by network pharmacology and *in vitro* experimental verification [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279: 114399.
- [12] Zhao Y, Jiang S, Zhang J, et al. A virulent *Bacillus cereus* strain from deep-sea cold seep induces pyroptosis in a manner that involves NLRP3 inflammasome, JNK pathway, and lysosomal rupture [J]. *Virulence*, 2021, 12(1): 1362-1376.
- [13] 钟瑾, 蒋立文, 覃思, 等. 槲皮素对化学性肝损伤保护机制的研究及应用进展 [J]. *中国食物与营养*, 2019, 25(9): 65-70.
- [14] 刘保峰, 李旭东, 何宁, 等. 甲苯二异氰酸酯诱导大鼠肝损伤及对 HO-1 表达的影响 [J]. *公共卫生与预防医学*, 2022, 33(1): 22-26.
- [15] 王萌, 周鸿缘, 桑锐, 等. 玉米赤霉烯酮致肝脏损伤机制研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2021, 42(12): 111-115.
- [16] Farghali H, Kgalalelo Kemelo M, Wojnarová L, et al. *In vitro* and *in vivo* experimental hepatotoxic models in liver research: applications to the assessment of potential hepatoprotective drugs [J]. *Physiol Res*, 2016, 65(4): S417-S425.
- [17] Ansari MA, Raish M, Bin Jordan YA, et al. Sinapic acid ameliorates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced fulminant hepatitis in rats: role of nuclear factor erythroid-related factor 2/heme oxygenase-1 pathways [J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27(7): 592-608.
- [18] 陈恬璐, 马晓春, 李旭. 肝素抑制脂多糖诱导单核细胞与内皮细胞的黏附作用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31(10): 1281-1284.
- [19] Duan H, Zhang Q, Liu J, et al. Suppression of apoptosis in vascular endothelial cell, the promising way for natural medicines

- to treat atherosclerosis [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 168: 105599.
- [20] 袁廷东, 陈茂剑, 黄文剑, 等. 橙皮苷对急性肝损伤模型小鼠肿瘤坏死因子- α 和干扰素- γ 表达的影响 [J]. *医药导报*, 2015, 34(6): 714-717.
- [21] Czaja AJ. Targeting apoptosis in autoimmune hepatitis [J]. *Dig Dis Sci*, 2014, 59(12): 2890-2904.
- [22] 贾岩, 金欢欢, 李蒙蒙, 等. 肝细胞程序性坏死在肝损伤中的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(12): 1651-1655.
- [23] 陈宵. 鹅膏毒肽所致肝损伤的代谢组学研究以及毒理学作用机制验证 [D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2020.
- [24] Chen T, Li R, Chen P. Gut microbiota and chemical-induced acute liver injury [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 688780.
- [25] 侯鹏, 杨烁, 秦利静, 等. 活性多糖抗酒精性肝损伤机制的研究进展 [J]. *吉林医药学院学报*, 2022, 43(1): 56-58.
- [26] 孙福荣, 王炳元. 细胞焦亡在酒精性肝病中的研究进展 [J]. *肝脏*, 2018, 23(10): 856-857.
- [27] Han D, Ybanez MD, Johnson HS, et al. Dynamic adaptation of liver mitochondria to chronic alcohol feeding in mice: biogenesis, remodeling, and functional alterations [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(50): 42165-42179.
- [28] Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(3): 184-190.
- [29] Pihán P, Carreras-Sureda A, Hetz C. BCL-2 family: integrating stress responses at the ER to control cell demise [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(9): 1478-1487.
- [30] Kim YS, Kim SG. Endoplasmic reticulum stress and autophagy dysregulation in alcoholic and non-alcoholic liver diseases [J]. *Clin Mol Hepatol*, 2020, 26(4): 715-727.
- [31] 欧阳香, 程虹毓, 胡伟琼, 等. 黄酮类化合物抗酒精性肝损伤作用及机制研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(9): 1200-1205.
- [32] 郭瑶雪, 邓晔, 李春, 等. 异烟肼致线粒体损伤引起药物性肝损伤研究进展 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2015, 20(3): 356-360.
- [33] Zhu QN, Xie HM, Zhang D, et al. Hepatic bile acids and bile acid-related gene expression in pregnant and lactating rats [J]. *Peer J*, 2013, 1: e143.
- [34] Kim KH, Choi S, Zhou Y, et al. Hepatic FXR/SHP axis modulates systemic glucose and fatty acid homeostasis in aged mice [J]. *Hepatology*, 2017, 66(2): 498-509.
- [35] Lee EA, Lee DI, Kim HY, et al. Cyp7a1 is continuously increased with disrupted Fxr-mediated feedback inhibition in hypercholesterolemic TALLYHO/Jng mice [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2018, 1863(1): 20-25.
- [36] Slijepcevic D, Roscam Abbing RLP, Katafuchi T, et al. Hepatic uptake of conjugated bile acids is mediated by both sodium taurocholate cotransporting polypeptide and organic anion transporting polypeptides and modulated by intestinal sensing of plasma bile acid levels in mice [J]. *Hepatology*, 2017, 66(5): 1631-1643.
- [37] Cariello M, Pigionica M, Gadaleta RM, et al. The enterokine fibroblast growth factor 15/19 in bile acid metabolism [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2019, 256: 73-93.
- [38] Gadaleta RM, Scialpi N, Peres C, et al. Suppression of hepatic bile acid synthesis by a non-tumorigenic FGF19 analogue protects mice from fibrosis and hepatocarcinogenesis [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 17210.
- [39] Chen J, Zhao KN, Chen C. The role of CYP3A4 in the biotransformation of bile acids and therapeutic implication for cholestasis [J]. *Ann Transl Med*, 2014, 2(1): 7.
- [40] 陶艳艳, 陈高峰, 刘成海. 常用急性肝损伤动物模型评价及其在中药药理研究中的应用 [J]. *上海中医药杂志*, 2019, 53(11): 12-19, 11.
- [41] 郑士宏. 芹菜素对 DDC 诱导的胆汁淤积性肝病的保护作用 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2021.
- [42] Tolba R, Kraus T, Liedtke C, et al. Diethylnitrosamine (DEN)-induced carcinogenic liver injury in mice [J]. *Lab Anim*, 2015, 49(1): 59-69.
- [43] 杨顺莉, 赵丽娇, 范腾蛟, 等. 铁卟啉催化二乙基亚硝胺羟基化的反应机理 [J]. *分子科学学报*, 2017, 33(1): 15-23.
- [44] Ali A, Kumar S, Kakaria VK, et al. Detection of promoter DNA methylation of APC, DAPK, and *GSTP1* genes in tissue biopsy and matched serum of advanced-stage lung cancer patients [J]. *Cancer Invest*, 2017, 35(6): 423-430.
- [45] Markou A, Paraskevopoulos P, Lazaridou M, et al. Abstract 1716; *GSTP1* promoter methylation in *in vivo* isolated CTCs from high-risk prostate cancer patients [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13): 1716.
- [46] 金春, 李蒙蒙, 李余佳, 等. 肝细胞癌的 RNA 甲基化修饰 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(7): 1339-1344.
- [47] Lokau J, Schoeder V, Haybaeck J, et al. Jak-stat signaling induced by interleukin-6 family cytokines in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(11): E1704.
- [48] 冯颖, 杨雪, 孙乐, 等. 扶正解毒消积方对二乙基亚硝胺诱导肝癌大鼠核受体共刺激因子 5-信号传导与转录激活因子 3 信号通路的调控机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(7): 3711-3714.
- [49] 庞惠萍, 丁泽, 苏娜, 等. 黄曲霉毒素 B1 致肝脏损伤的机制 [J]. *动物医学进展*, 2019, 40(12): 110-113.

[收稿日期] 2022-01-22