

牡荆素-4"-O-葡萄糖苷对对乙酰氨基酚诱导急性肝损伤有改善作用

董凡¹, 赖尚磊², 邱剑楠³, 窦晓兵³

1. 浙江中医药大学公共卫生学院, 浙江 杭州 310053

2. 绍兴市人民医院医学研究中心, 浙江 绍兴 312000

3. 浙江中医药大学生命科学学院, 浙江 杭州 310053

[摘要] **目的:** 研究牡荆素-4"-O-葡萄糖苷(VOG)对对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤的改善作用及潜在机制。**方法:** 将C57BL/6小鼠随机分为空白对照组、模型对照组、VOG小剂量组(VOG 30 mg/kg)和VOG大剂量组(VOG 60 mg/kg)。除空白对照组外, 每组腹腔注射对乙酰氨基酚500 mg/kg建立急性肝损伤模型, VOG组在对乙酰氨基酚处理前两小时通过灌胃给予VOG。通过测定小鼠血浆中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)水平和苏木精-伊红染色评价肝损伤情况; 测定小鼠肝组织中丙二醛含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性以评价肝氧化应激反应; 定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)法检测小鼠肝组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、*Il-1 β* 和*Il-6*的基因表达水平; 蛋白质印迹法检测小鼠肝组织c-Jun氨基端激酶(JNK)、p38的蛋白磷酸化水平和肌醇需求酶1 α (IRE-1 α)、X盒结合蛋白1s(XBP1s)、葡萄糖调节蛋白78(GRP78)蛋白表达。在AML-12细胞上用衣霉素构建内质网应激模型, 细胞计数试剂盒-8法检测细胞存活率, 乳酸脱氢酶(LDH)法检测细胞损伤程度, 并用qRT-PCR法检测细胞中*Ire-1 α* 、*Xbp1s*和*Grp78*的基因表达水平。**结果:** 动物实验结果显示, 与模型对照组比较, VOG组显著改善小鼠血浆中ALT、AST含量和肝组织中丙二醛含量、SOD和CAT活性, 降低肝组织中TNF- α 、*Il-1 β* 和*Il-6*基因表达, 改善小鼠肝组织中JNK、p38的蛋白磷酸化水平和IRE-1 α 、XBP1s、GRP78蛋白表达。细胞实验结果显示, VOG预处理可提高细胞存活率、降低LDH释放量, 降低细胞中*Ire-1 α* 、*Xbp1s*和*Grp78*的mRNA表达。**结论:** VOG可抑制炎症和氧化应激, 通过抑制内质网应激和调控MAPK信号通路改善对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤。



[关键词] 牡荆素-4"-O-葡萄糖苷; 对乙酰氨基酚; 急性肝损伤; 内质网应激; 丝裂

收稿日期(Received): 2024-08-17 修改返回日期(Revised): 2025-03-24 接受日期(Accepted): 2025-04-24

基金项目(Funding): 国家自然科学基金(82374102); 浙江省自然科学基金(MS25H270057); 浙江省博士后科研项目(ZJ2024067)

第一作者(First author): 董凡, 硕士研究生, 主要从事中医药调节脂肪代谢的作用及分子机制研究; E-mail: 173195226@qq.com; ORCID: 0009-0002-1323-8643

通信作者(Corresponding author): 窦晓兵, 教授, 博士生导师, 主要从事中医药调节脂肪代谢的作用及分子机制研究; E-mail: xbdou77@163.com; ORCID: 0000-0002-2465-3079

原活化蛋白激酶信号通路;氧化应激;炎症;小鼠

[中图分类号] R285 [文献标志码] A

Vitexin-4"-O-glucoside alleviates acetaminophen-induced acute liver injury

DONG Fan¹, LAI Shanglei², QIU Jiannan³, DOU Xiaobing³ (1. School of Public Health, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2. Medical Research Center, Shaoxing People's Hospital, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China; 3. School of Life Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Corresponding author: DOU Xiaobing, E-mail: xbdou77@163.com, ORCID: 0000-0002-2465-3079

[**Abstract**] **Objective:** To explore the protective effect of vitexin-4"-O-glucoside (VOG) against acetaminophen-induced acute liver injury in mice and its underlying mechanism. **Methods:** C57BL/6 mice were randomly divided into 4 groups: normal control group, model control group, low-dose group of VOG (30 mg/kg), and high-dose group of VOG (60 mg/kg). Acute liver injury was induced by intraperitoneal injection of acetaminophen (500 mg/kg). VOG was administrated by gavage 2 h before acetaminophen treatment in VOG groups. The protective effect of VOG against acute liver injury was evaluated by detecting alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) levels and hematoxylin and eosin staining. The malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity in liver were detected to evaluate the hepatic oxidative stress. The expression levels of tumor necrosis factor (TNF)- α , *Il-1 β* , and *Il-6* in liver were detected by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). The expression levels of phosphorylated c-jun N-terminal kinase (JNK)/JNK, phosphorylated p38/p38, inositol-requiring enzyme 1 α (IRE-1 α), X-box binding protein 1s (XBP1s), and glucose-regulated protein 78 (GRP78) in liver were detected by Western blotting. An endoplasmic reticulum stress model was established in AML-12 cells using tunicamycin. Cell viability was assessed using the CCK-8 assay, and the degree of cell damage was detected by lactate dehydrogenase (LDH) assay. The gene expression levels of *Ire-1 α* , *Xbp1s*, and *Grp78* in the cells were detected using qRT-PCR. **Results:** In the animal experiments, compared with the model control group, VOG significantly improved plasma ALT and AST levels, liver MDA content, as well as SOD and CAT activities. VOG also reduced the expression levels of *Tnf- α* , *Il-1 β* , and *Il-6* in the liver, and improved protein phosphorylation levels of JNK and p38, as well as the protein expression levels of IRE-1 α , XBP1s, and GRP78. In cell experiments, VOG pretreatment enhanced cell viability, reduced LDH release and decreased the mRNA expression of *Ire-1 α* , *Xbp1s*, and *Grp78*. **Conclusions:** VOG can suppress inflammation and oxidative stress, and alleviate acetaminophen-induced acute liver injury in mice by suppressing endoplasmic reticulum stress and modulating the MAPK signaling pathway.

[**Key words**] Vitexin-4"-O-glucoside; Acetaminophen; Acute liver injury; Endoplasmic reticulum stress; Mitogen-activated protein kinase signaling pathway; Oxidative stress; Inflammation; Mice

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2025, 54(3): 307-317.]

[缩略语] 细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450); *N*-乙酰-对苯醌亚胺 (*N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine, NAPQI); 牡荆素-4"-O-葡萄糖苷 (vitexin-4"-O-glucoside, VOG); 丙氨酸转氨酶 (alanine transaminase, ALT); 天冬氨酸转氨酶 (aspartate transaminase, AST); 过氧化氢酶 (catalase, CAT); 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD); 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH); 定量聚合酶链反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR); c-Jun 氨基端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK); 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK); 肌醇需求酶 (inositol-requiring enzyme, IRE); X 盒结合蛋白 (X-box binding protein, XBP); 葡萄糖调节蛋白 (glucose-regulated protein, GRP); 苏木精-伊红染色 (hematoxylin and eosin staining, HE 染色); 定量逆转录聚合酶链反应 (quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR); 细胞计数试剂盒 (cell counting kit, CCK); 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)

对乙酰氨基酚于 1950 年获得美国食品药品监督管理局的批准,在临床上广泛应用于治疗发烧及疼痛等症状^[1]。然而,对乙酰氨基酚的过量使用可引起肝肾毒性,甚至导致患者死亡^[2]。肝脏是对乙酰氨基酚代谢的主要器官。大多数对乙酰氨基酚可以直接与葡萄糖醛酸和硫酸盐辅因子结合,随后结合物通过胆汁分泌或尿液排出体外,其余部分可被 CYP450 酶系统代谢^[3]。在体内,CYP450 可以将对乙酰氨基酚转化为促进肝损伤的亲电子氧化剂 NAPQI^[4]。在正常情况下,肝组织中的谷胱甘肽通过巯基乙酸和半胱氨酸的结合促进 NAPQI 代谢^[5]。对乙酰氨基酚的滥用会使谷胱甘肽耗竭,NAPQI 与蛋白巯基发生共价结合形成蛋白加合物,诱导氧化应激和线粒体功能障碍,从而促进肝细胞损伤^[6]。在对乙酰氨基酚诱导的肝损伤病理进程中,内质网应激这一关键机制会被显著激活^[7]。谷胱甘肽的耗竭导致细胞内氧化还原失衡,NAPQI 与内质网蛋白共价结合形成加合物,加剧内质网应激从而加剧肝损伤^[8]。此外,MAPK 信号通路的异常表达也与急性肝损伤密切相关^[9]。鉴于对乙酰氨基酚诱导的肝损伤对患者的生活质量和预期寿命产生重大影响,也给公共卫生系统带来了巨大的经济负担,阐明相关机制并开发安全且有效的保肝药物用于改善对乙酰氨基酚诱导的肝损伤是当前医学研究的重点之一。

山楂叶为蔷薇科植物山里红或山楂的干燥

叶,归肝经,具有活血化瘀、理气通脉、化浊降脂的功效^[10]。现代医学研究表明,山楂叶表现出多种药理作用,包括降脂、降压、抗炎和抗心肌缺血等^[11]。值得注意的是,山楂叶中富含黄酮类化合物,其具有抗氧化、抑制炎症因子表达、清除自由基和调节脂代谢等作用^[12-14]。VOG 是山楂叶中黄酮类化合物的重要成员之一,其具有良好的抗氧化作用,能够通过降低丙二醛含量改善细胞氧化应激反应^[15]。此外,VOG 能够通过抑制细胞焦亡改善小鼠肝缺血再灌注损伤,并且能够降低小鼠血浆中 ALT 和 AST 的水平和肝组织 *IL-1 β* 基因的表达水平^[16]。VOG 能否改善对乙酰氨基酚所致急性肝损伤? 本研究采用对乙酰氨基酚诱导建立小鼠急性肝损伤模型,探究 VOG 对对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤的影响及其机制,为 VOG 的进一步开发应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物、仪器和试剂

8 周龄的雄性 C57BL/6 小鼠,体重 (20 \pm 2)g,购于中国上海斯莱克实验动物有限责任公司,生产许可证号为 SCXK(沪)2017-0005。

全自动样品快速研磨仪为中国上海净信实业发展有限公司产品(型号 JXFSTPRP-24L);酶标仪为美国 Thermo Fisher Scientific 公司产品(货号 A51119600DPC);恒温金属浴为中国杭州博日科技股份有限公司产品(型号 HB-202);数字切片扫描分析仪为日本 Olympus 公司产品(型号

SLIDEVIEWVS200);电泳仪为美国Bio-Rad公司产品(货号1658004)。

对乙酰氨基酚和VOG为中国上海源叶生物科技有限公司产品;ALT、AST、CAT检测试剂盒为中国南京建成生物研究所产品;丙二醛检测试剂盒、总SOD活性检测试剂盒、LDH细胞毒性检测试剂盒为中国上海碧云天生物技术股份有限公司产品;RNA提取试剂盒为中国康为世纪生物科技有限公司产品;Evo M-MLV逆转录试剂盒、SYBR Green Pro Taq HS预混型qPCR试剂盒(含ROX)为中国艾科瑞生物科技有限公司产品;JNK、p38 MAPK、IRE-1 α 、XBP1s和GRP78单克隆抗体为美国Cell Signaling Technology公司产品。

1.2 动物分组及给药

C57BL/6小鼠禁食不禁水12 h后随机分成空白对照组、模型对照组、VOG小剂量组(30 mg/kg)、VOG大剂量组(60 mg/kg)^[17],每组6只。除空白对照组外,各组腹腔注射对乙酰氨基酚500 mg/kg建立急性肝损伤模型,在对乙酰氨基酚处理前两个小时灌胃给予VOG。空白对照组给予等体积溶剂灌胃及腹腔注射。注射对乙酰氨基酚8 h后用戊巴比妥麻醉处死小鼠,收集血液和肝脏标本。

1.3 小鼠外周血生化指标检测

采用ALT、AST检测试剂盒测定小鼠血浆中ALT、AST水平;采用丙二醛、SOD、CAT检测试剂盒检测小鼠肝组织丙二醛含量、SOD和CAT活性^[18]。

1.4 HE染色观察肝组织病理学变化

将各组小鼠肝组织的同一部位用多聚甲醛固定48 h,脱水后用石蜡包埋,蜡块凝固后进行切片,厚度约4 μ m,并进行HE染色。

1.5 蛋白质印迹法检测内质网应激相关蛋白表达

剪取适量肝组织置于蛋白裂解液中破碎,匀浆液置于15 000 \times g、4 $^{\circ}$ C离心机中离心15 min,吸取上清液。通过BCA法精确测定蛋白质浓度,并制备用于后续实验的上样标本。蛋白质印迹法检测标本中磷酸化JNK、JNK、磷酸化p38、p38蛋白,以及IRE-1 α 、XBP1s、GRP78等蛋白的表达,用化学发光成像仪进行拍照分析。以 β -actin为内参,采用ImageJ软件对条带灰度值进行差

异分析。

1.6 qRT-PCR法检测炎症及内质网应激相关基因的表达

剪取适量肝组织在预冷好的破碎机中充分破碎裂解,按照RNA提取试剂盒说明书提取肝组织中的RNA;根据说明书使用TRIzol裂解液充分裂解细胞并提取细胞总RNA。使用逆转录试剂盒将RNA逆转录合成cDNA,使用SYBR Green qPCR Mix进行qPCR,反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性1 min,95 $^{\circ}$ C变性10 s,60 $^{\circ}$ C退火10 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s。目的基因及引物序列见表1。

1.7 细胞培养

AML-12细胞购于美国典型培养物保藏中心。细胞培养在含有体积分数为10%的胎牛血清、5 mg/mL胰岛素、5 μ g/mL转铁蛋白、5 ng/mL硒、40 ng/mL地塞米松、100 U/mL青霉素、100 μ g/mL链霉素的DMEM/F-12培养基中,孵育在温度为37 $^{\circ}$ C,二氧化碳含量为5%的培养箱中。

1.8 CCK-8法测定细胞存活率

将细胞接种在96孔板中(1.0×10^4 个/孔),当细胞密度达到60%左右进行给药操作。空白对照组和模型对照组加入100 μ L细胞培养基,VOG组加入100 μ L的VOG(1.25、2.50、5.00、10.00、20.00、40.00 μ g/mL)。随后,模型对照组和VOG组加入5 μ g/mL衣霉素诱导细胞内质网应激^[19]。按照CCK-8试剂盒说明书步骤,检测各组吸光度值。细胞存活率(%)=(各组吸光度值-空白孔吸光度值)/(正常对照组吸光度值-空白孔吸光度值) $\times 100\%$ 。

1.9 LDH法检测细胞损伤程度

将细胞以密度为 1.0×10^5 个/孔接种于24孔板中。当细胞密度达到80%左右进行操作,按照

表1 引物序列

Table 1 Sequence of primers

基因名称	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>I8S</i>	AGGTCTGTGATGCCCTTAGA	GAATGGGGTTCAACGGGTTA
<i>Il-1β</i>	GAAATGCCACCTTTTGACAGTG	TGGATGCTCTCATCAGGACAG
<i>Il-6</i>	CTCTGGGAAATCGTGGAAT	CCAGTTTGGTAGCATCCATC
<i>Tnf-α</i>	CCCTCACACTCAGATCATCTTC	GTTGGTTGTCTTTGAGATCCAT
<i>Ire-1α</i>	ACACTGCCTGAGACCTTGTTG	GGAGCCCGTCCTCTTGCTA
<i>Xbp1s</i>	AGCAGCAAGTGCTGATTTG	GAGTTTTCTCCCGTAAAGCTGA
<i>Grp78</i>	ACTTGGGGACCACCTATTCCT	ATCGCCAATCAGACGCTCC

TNF:肿瘤坏死因子;IRE:肌醇需求酶;XBP:X盒结合蛋白;GRP:葡萄糖调节蛋白。

LDH 细胞毒性检测试剂盒说明书检测培养液中的 LDH 释放量。

1.10 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,先进行方差齐性检验,满足方差齐性时实验数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VOG 对模型小鼠肝功能的影响

如表 2 所示,与空白对照组比较,模型对照组 ALT 和 AST 水平均增高(均 $P<0.01$);与模型对照组比较,VOG 小剂量组和 VOG 大剂量组 ALT 和 AST 水平均降低(均 $P<0.05$),且 VOG 大剂量组 ALT 和 AST 水平低于 VOG 小剂量组(均 $P<0.05$)。结果表明,VOG 能够改善对乙酰氨基酚诱导的肝损伤。

表 2 各组肝功能指标检测结果比较

Table 2 Liver function of mice in each group			
($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白对照组	6	32.78±4.41	32.45±4.81
模型对照组	6	901.28±101.61**	949.42±127.64**
VOG 小剂量组	6	555.80±76.88 [#]	569.42±80.38 [#]
VOG 大剂量组	6	265.43±49.06 ^{##△}	313.77±64.68 ^{##△}

与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与 VOG 小剂量组比较,[△] $P<0.05$. VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;ALT:丙氨酸转氨酶;AST:天冬氨酸转氨酶。

2.2 VOG 对模型小鼠肝组织病理学的影响

与空白对照组比较,模型对照组肝细胞体积增大、胞浆疏松,肝细胞内出现大量空泡,肝损伤明显;与模型对照组比较,VOG 小剂量组和 VOG 大剂量组空泡减少,炎症细胞浸润明显减轻,细胞质和细胞核的形态得到一定恢复,其中 VOG 大剂

量组改善效果更为显著(图 1)。结果表明,VOG 能有效改善对乙酰氨基酚诱导的肝组织病理学损伤。

2.3 VOG 对模型小鼠氧化应激指标的影响

如表 3 所示,与空白对照组比较,模型对照组肝组织中丙二醛含量增加($P<0.01$),SOD 和 CAT 活性降低(均 $P<0.01$);与模型对照组比较,VOG 小剂量组和 VOG 大剂量组丙二醛含量均下降,SOD 和 CAT 的活性均升高(均 $P<0.05$),其中 VOG 大剂量组 SOD 和 CAT 活性相比 VOG 小剂量组升高更明显(均 $P<0.05$)。结果提示,VOG 能显著改善对乙酰氨基酚诱导的模型鼠氧化应激状况。

2.4 VOG 对模型小鼠炎症因子转录水平的影响

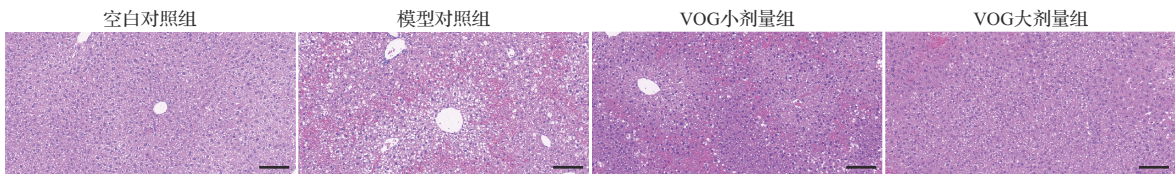
如表 4 所示,与空白对照组比较,模型对照组 *Il-1 β* 、*Il-6* 和 *Tnf- α* 基因表达水平均上调(均 $P<0.01$),而 VOG 小剂量组和 VOG 大剂量组上述基因表达水平较模型对照组均下调(均 $P<0.05$),其中 VOG 大剂量组 *Il-1 β* 和 *Tnf- α* 基因表达水平相比 VOG 小剂量组更低(均 $P<0.05$)。结果提示,VOG 可显著改善对乙酰氨基酚诱导的模型鼠肝脏炎症。

2.5 VOG 对模型小鼠 JNK 和 p38 蛋白磷酸化水平的影响

如图 2 和表 5 所示,与空白对照组比较,模型对照组肝组织中 JNK 和 p38 磷酸化的蛋白表达上调(均 $P<0.01$);与模型对照组比较,VOG 小剂量组和 VOG 大剂量组中 JNK 和 p38 磷酸化的蛋白表达均下调(均 $P<0.05$),其中 VOG 大剂量组下调更显著(均 $P<0.05$)。结果提示,MAPK 信号通路中的 JNK 和 p38 蛋白参与 VOG 改善对乙酰氨基酚诱导的模型鼠急性肝损伤过程。

2.6 VOG 对模型小鼠内质网应激相关蛋白的影响

如图 3 和表 6 所示,与空白对照组比较,模型



模型对照组肝细胞体积增大、胞浆疏松,肝细胞内出现大量空泡,而 VOG 小剂量组和 VOG 大剂量组空泡显著减少。标尺=100 μ m. VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;HE 染色;苏木精-伊红染色。

图 1 各组肝组织病理学结果(HE 染色)

Figure 1 Histopathology of liver tissues from mice in each group (HE staining)

表3 各组肝组织中氧化应激指标检测结果比较

Table 3 Levels of oxidative stress indicators in liver tissues from mice in each group

组别	n	丙二醛(nmol/mg 蛋白)	SOD(U/mg 蛋白)	CAT(U/mg 蛋白)
空白对照组	6	5.51±1.76	101.51±6.84	77.24±8.71
模型对照组	6	18.70±3.22**	35.97±8.17**	36.54±4.52**
VOG小剂量组	6	11.07±1.69 [#]	66.38±7.16 [#]	50.01±7.22 [#]
VOG大剂量组	6	7.40±2.13 ^{##}	96.53±13.16 ^{##△}	74.01±7.97 ^{##△}

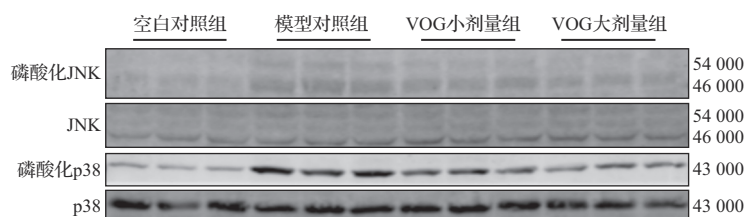
与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与VOG小剂量组比较,[△] $P<0.05$ 。VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;SOD:超氧化物歧化酶;CAT:过氧化氢酶。

表4 各组肝组织中炎症因子基因表达水平比较

Table 4 Gene expression of hepatic inflammatory factors liver tissues from mice in each group

组别	n	<i>Il-1β</i>	<i>Il-6</i>	<i>Tnf-α</i>
空白对照组	6	1.02±0.25	1.03±0.23	1.02±0.23
模型对照组	6	4.60±0.91**	2.98±0.35**	3.30±0.44**
VOG小剂量组	6	2.31±0.56 [#]	1.38±0.23 ^{##}	1.93±0.10 [#]
VOG大剂量组	6	1.13±0.36 ^{##△}	1.29±0.39 ^{##}	1.24±0.06 ^{##△}

与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与VOG小剂量组比较,[△] $P<0.05$ 。VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;TNF:肿瘤坏死因子。



VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;JNK:c-Jun氨基端激酶。

图2 各组肝组织中JNK和p38蛋白电泳图

Figure 2 Electrophoresis results of JNK and p38 proteins in liver tissues from mice in each group

表5 各组肝组织中JNK和p38蛋白磷酸化水平比较

Table 5 JNK and p38 protein phosphorylation levels in liver tissues from mice in each group

组别	n	磷酸化JNK/JNK	磷酸化p38/p38
空白对照组	3	1.00±0.13	1.00±0.11
模型对照组	3	2.16±0.30**	4.90±1.20**
VOG小剂量组	3	1.73±0.01 [#]	3.26±0.07 [#]
VOG大剂量组	3	1.44±0.03 ^{##△}	2.40±1.16 ^{##△}

与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$;与VOG小剂量组比较,[△] $P<0.05$ 。VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;JNK:c-Jun氨基端激酶。

对照组肝组织中IRE-1α、XBP1s和GRP78蛋白表达增加(均 $P<0.01$);与模型对照组比较,VOG小

剂量组和VOG大剂量组中的IRE-1α、XBP1s和GRP78的蛋白表达均减少(均 $P<0.05$),其中VOG大剂量组IRE-1α和GRP78蛋白表达比VOG小剂量组均减少(均 $P<0.05$)。结果提示,VOG可显著改善对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝组织内质网应激状况。

2.7 VOG对衣霉素诱导的细胞状态的影响

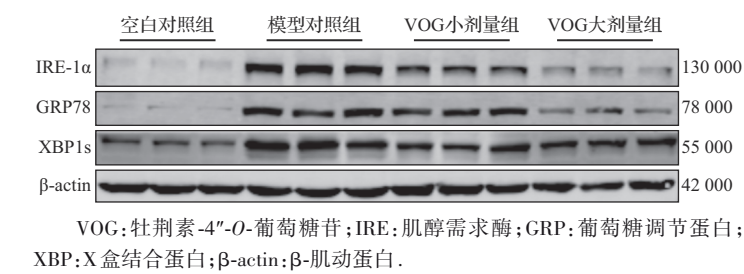
如表7所示,与空白对照组比较,模型对照组细胞存活率显著下降并且LDH释放量显著升高(均 $P<0.01$);与模型对照组比较,5.00、10.00、20.00和40.00 μg/mL VOG预处理可升高细胞存活率、降低LDH释放量(均 $P<0.05$)。结果提示,VOG能有效缓解衣霉素诱导的细胞损伤。

2.8 VOG对衣霉素诱导的细胞内质网应激相关基因的影响

选取5.00 μg/mL和20.00 μg/mL VOG进行细胞内质网应激相关基因表达测定。如表8所示,与空白对照组比较,模型对照组中*Ire-1α*、*Xbp1s*和*Grp78*的mRNA水平平均升高(均 $P<0.01$);与模型对照组比较,VOG组上述三种基因的表达水平均下降(均 $P<0.05$),其中20.00 μg/mL VOG组*Grp78*基因水平相比5.00 μg/mL VOG组更低($P<0.05$)。结果提示,VOG可显著改善衣霉素诱导的内质网应激。

3 讨论

目前,药物性肝损伤的发病率呈现出逐年升高的趋势^[20]。药物性肝损伤是指由药物或其代谢产物引起的肝损伤,是一种常见的药物不良反应^[21]。在亚洲和欧美国家,大多数急性肝衰竭由药物引起的急性肝损伤所致^[22]。对乙酰氨基酚是一种广泛使用的解热镇痛药,但在过量使用或特定条件下,可能导致严重肝损伤,甚至引发急性肝衰竭^[23]。对乙酰氨基酚诱导急性肝损伤的发病机制尚未完全阐明,但目前普遍认为炎症反应、氧化应激和内质网应激与对乙酰氨基酚诱导肝损伤的病理生理变化紧密相关,共同推动了疾



VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;IRE:肌醇需求酶;GRP:葡萄糖调节蛋白;XBP:X盒结合蛋白;β-actin:β-肌动蛋白。
图3 各组肝组织中内质网应激相关蛋白电泳图
Figure 3 Electrophoresis results of endoplasmic reticulum stress-related proteins in liver tissues from mice in each group

表6 各组肝组织中内质网应激相关蛋白表达水平比较
Table 6 Expression levels of endoplasmic reticulum stress-related proteins in liver tissues from mice in each group
($\bar{x}\pm s$)

组 别	n	IRE-1α	GRP78	XBP1s
空白对照组	3	1.00±0.05	1.00±0.08	1.00±0.20
模型对照组	3	7.42±2.21**	5.23±0.70**	4.20±0.77**
VOG小剂量组	3	4.21±0.03 [#]	4.56±0.50 [#]	3.63±0.54 [#]
VOG大剂量组	3	2.05±0.07 ^{#△}	2.39±0.30 ^{#△}	3.55±0.35 [#]

与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与VOG小剂量组比较,[△] $P<0.05$ 。VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;IRE:肌醇需求酶;GRP:葡萄糖调节蛋白;XBP:X盒结合蛋白。

表7 各组细胞存活率和LDH释放量比较
Table 7 Cell viability and LDH release in each group
($\bar{x}\pm s$,%)

组 别	<i>n</i>	细胞存活率	LDH 释放量	
空白对照组	6	1.00±0.10	1.00±0.01	
模型对照组	6	0.51±0.06**	1.99±0.14**	
VOG 组	1.25 μg/mL	6	0.57±0.06	1.83±0.08
	2.50 μg/mL	6	0.62±0.06	1.75±0.08
	5.00 μg/mL	6	0.70±0.07 [#]	1.58±0.07 [#]
	10.00 μg/mL	6	0.77±0.06 [#]	1.41±0.07 ^{##}
	20.00 μg/mL	6	0.86±0.07 ^{##}	1.36±0.08 ^{##}
	40.00 μg/mL	6	0.85±0.07 ^{##}	1.37±0.06 ^{##}

与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;LDH:乳酸脱氢酶。

病进展^[24-26]。因此,深入理解并干预这些机制,对于预防和治疗对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤具有重要意义。

中药在改善对乙酰氨基酚诱导急性肝损伤的病理进程中展现出了潜力和广阔的发展前景,逐渐成为备受期待的治疗策略^[27-28]。研究显示,山楂叶在改善肝脏健康方面展现出显著效果^[29]。VOG是山楂叶中有效成分之一,具有改善胰岛素

抵抗、调节脂肪细胞脂肪分解和改善大鼠脂肪肝的作用^[30-31]。本研究通过HE染色观察到VOG改善小鼠肝组织中大小泡混合型脂肪变、气球样变等现象,生化指标显示VOG组小鼠血浆中的ALT和AST水平显著下降,结果表明VOG能改善对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤。

氧化应激是对乙酰氨基酚诱导急性肝损伤发生发展的标志性事件之一^[32]。丙二醛含量增加反映了氧化应激状态。对乙酰氨基酚过量摄入可导致肝细胞内活性氧的产生增加,进而引发脂质过氧化,导致丙二醛含量增加^[33]。SOD是一种关键的抗氧化酶,能够催化超氧自由基歧化为氧气和过氧化氢,在清除活性氧和改善氧化应激诱导的肝细胞损伤中发挥关键作用^[34]。CAT同样也是一种发挥关键作用的抗氧化酶,通过分解过氧化氢为水和氧气维持细胞内氧化剂与抗氧化剂之间的平衡^[35]。本研究对各组小鼠肝组织抗氧化能力进行评估,结果表明VOG能够降低对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝组织中丙二醛含量增加,并且恢复对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝组织中SOD和CAT活性,提示VOG具有抗氧化能力,能够改善小鼠对乙酰氨基酚诱导的氧化应激反应。

现有研究报道,对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤与炎症反应密切相关^[36]。本研究测定了小鼠肝组织促炎性细胞因子的基因表达水平。本文资料显示,过量对乙酰氨基酚可导致小鼠肝组织*Tnf-α*、*Il-1β*和*Il-6*基因表达显著升高,与之前报道的结果一致^[37];而VOG组能够逆转上述基因

表8 各组细胞内质网应激相关基因表达水平比较
Table 8 Expression levels of endoplasmic reticulum stress-associated genes in cells in each group
($\bar{x}\pm s$,n=3)

组 别	<i>Ire-1α</i>	<i>Grp78</i>	<i>Xbp1s</i>
空白对照组	1.00±0.12	1.00±0.11	1.00±0.13
模型对照组	2.44±0.28**	2.77±0.17**	2.09±0.11**
VOG 组 5.00 μg/mL	1.92±0.13 [#]	2.11±0.12 [#]	1.43±0.19 [#]
20.00 μg/mL	1.73±0.09 [#]	1.42±0.18 ^{##△}	1.38±0.19 [#]

与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型对比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与5.00 μg/mL VOG组比较,[△] $P<0.05$ 。VOG:牡荆素-4"-O-葡萄糖苷;IRE:肌醇需求酶;GRP:葡萄糖调节蛋白;XBP:X盒结合蛋白。

表达的升高。结果提示,VOG能抑制对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝组织中促炎性细胞因子的生成,改善对乙酰氨基酚诱导的炎症反应。JNK和p38是MAPK家族的两个重要成员,通过响应各种环境的应激反应和炎症细胞因子而被激活,在调节细胞应激反应、炎症、细胞凋亡等过程中发挥关键作用^[38]。本文资料显示,过量对乙酰氨基酚可激活JNK和p38信号通路,模型对照组小鼠肝组织中JNK和p38的蛋白磷酸化水平显著高于空白对照组,而VOG组中JNK和p38的蛋白磷酸化水平显著下调,提示MAPK信号通路中的JNK和p38蛋白参与VOG改善对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤过程。

炎症反应和氧化应激的持续存在会进一步诱导内质网应激^[39]。在对乙酰氨基酚诱导的肝损伤中,氧化应激导致细胞内活性氧水平显著升高,破坏细胞的氧化还原平衡。同时,炎症反应释放的促炎性细胞因子会激活细胞内的信号通路,进一步加剧细胞内的应激状态,这种双重打击使得内质网的功能受到严重影响^[40-41]。内质网是细胞内重要的细胞器,在蛋白质的合成、折叠、加工和运输过程中扮演着关键角色,确保线性多肽链正确折叠成其功能性三维结构^[42]。当蛋白质无法成功折叠成正确的三维结构时,内质网内错误折叠或未折叠蛋白质出现积累,从而干扰内质网稳态,触发一系列生物学反应,即内质网应激^[43]。内质网应激的激活会进一步加剧氧化应激和炎症反应,形成一个恶性循环,最终导致肝细胞损伤。内质网应激已被证实与对乙酰氨基酚诱导急性肝损伤的进展存在密切联系^[44]。IRE-1 α 是定位于内质网的跨膜蛋白,能够介导未折叠蛋白反应^[45]。IRE-1 α 可以通过与其他蛋白结合激活JNK^[46],从而诱发炎症反应,促进肝细胞死亡^[47]。在内质网应激条件下,IRE-1 α 通过催化XBP1 mRNA的非常规剪接产生具备活性的转录因子XBP1s,从而调控下游应激响应蛋白的表达^[48]。XBP1s是调控未折叠蛋白反应的重要成员之一,参与调控肝细胞的生长和分化,有助于缓解蛋白质不正确折叠导致的内质网应激^[49]。在内质网处于稳态的情况下,GRP78能够调节IRE-1 α 并且与其结合,抑制IRE-1 α 激活;而在内质网应激状态下,GRP78与IRE-1 α 分离并激活相关信号传导途径,从而清除未折叠蛋白并恢复内质网稳态^[50]。本文资料

显示,模型对照组小鼠肝组织IRE-1 α 、XBP1s和GRP78的蛋白表达显著增加,而VOG组中上述蛋白表达量显著下调,结果表明VOG能够改善对乙酰氨基酚诱导的内质网应激。为了进一步验证VOG能够改善内质网应激,本研究通过观察VOG预处理对AML-12小鼠肝细胞的影响,探讨其对细胞损伤的保护作用以及对内质网应激相关基因的调节作用。结果显示,VOG预处理可显著改善LDH释放水平和细胞存活率,提示VOG能有效缓解衣霉素造成的细胞损伤。此外,VOG显著降低Ire-1 α 、Xbp1s和Grp78的mRNA表达水平,进一步证实了VOG对内质网应激的抑制作用。

本研究还存在一定的局限性。临床实践中,对乙酰氨基酚中毒通常是在过量摄入后才被发现,此时肝损伤已经发生,因此临床治疗多在中毒后进行。在动物实验中,预防给药是一种常见的研究策略,有助于评估药物在预防肝损伤方面的潜力。鉴于临床情况更为复杂,存在个体差异、病情严重程度以及药物的药代动力学等多种因素,预防给药的结果不能直接外推到临床治疗上,但可以为临床用药提供参考。

综上所述,本研究结果表明VOG可通过抑制炎症因子的表达和氧化应激反应,以及改善JNK、p38的蛋白磷酸化水平和内质网应激相关蛋白的表达水平,对对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤发挥保护作用,提示VOG在预防和治疗对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤方面存在重要的应用价值。

本文附加文件见电子版。



志谢 研究得到国家自然科学基金(82374102)、浙江省自然科学基金(MS25H270057)和浙江省博士后科研项目(ZJ2024067)支持

Acknowledgements The study was supported by the National Natural Science Foundation of China (82374102), Natural Science Foundation of Zhejiang Province (MS25H270057), and Zhejiang Provincial Postdoctoral Research Project (ZJ2024067)

作者贡献 董凡、赖尚磊、邱剑楠和窦晓兵参与论文选稿和设计或参与资料获取、分析或解释,起草研究论文或修改重要智力性内容。所有作者均已阅读并认可最终稿件,并对数据的完整性和安全性负责。具体见电子版

Author Contributions DONG Fan, LAI Shanglei, QIU Jiannan and DOU Xiaobing participated in brewing and designing experiments, or acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; drafting the work, or revising critically for important intellectual content. All authors have read and approved the final manuscript, and take responsibility for the integrity and security of the data. See the electronic version for details

数据可用性 本研究的相关数据可根据合理请求从通信作者(E-mail: xbdou77@163.com)处获得

Data Availability All relevant data supporting the findings of this study can be accessed upon reasonable request from the corresponding author at xbdou77@163.com

医学伦理 本研究遵循国家和浙江中医药大学有关实验动物管理和使用的规定,通过浙江中医药大学伦理委员会审查(IACUC-20220221-27)

Ethical Approval All applicable national guidelines and Zhejiang Chinese Medical University regulations for the care and use of animals were followed, and the research protocol of animal experiments was approved by the Ethics Committee of Zhejiang Chinese Medical University (IACUC-20220221-27)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2025. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献(References)

- [1] CHOWDHURY A, NABILA J, ADELUSI TEMITOPE I, et al. Current etiological comprehension and therapeutic targets of acetaminophen-induced hepatotoxicity[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 161: 105102.
- [2] LEE W M. Acetaminophen (APAP) hepatotoxicity— isn't it time for APAP to go away?[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(6): 1324-1331.
- [3] 余鹏飞, 吴 桥, 段钟平, 等. 对乙酰氨基酚致药物性肝损伤的机制研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(9): 2108-2112.
YU Pengfei, WU Qiao, DUAN Zhongping, et al. Research advances in the mechanism of drug-induced liver injury due to paracetamol[J]. *Journal of Clinical Hepatology*, 2019, 35(9): 2108-2112. (in Chinese)
- [4] CHAO X, WANG H, JAESCHKE H, et al. Role and mechanisms of autophagy in acetaminophen-induced liver injury[J]. *Liver Int*, 2018, 38(8): 1363-1374.
- [5] ATHERSUCH T J, ANTOINE D J, BOOBIS A R, et al. Paracetamol metabolism, hepatotoxicity, biomarkers and therapeutic interventions: a perspective[J]. *Toxicol Res*, 2018, 7(3): 347-357.
- [6] 朱平生, 焦炎杰, 付双楠, 等. 对乙酰氨基酚致大鼠肝损伤早期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): 118-123.
ZHU Pingsheng, JIAO Yanjie, FU Shuangnan, et al. Dynamic changes of biomarker levels in early stage of acetaminophen-induced liver injury[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2019, 25(2): 118-123. (in Chinese)
- [7] DARA L, JI C, KAPLOWITZ N. The contribution of endoplasmic reticulum stress to liver diseases[J]. *Hepatology*, 2011, 53(5): 1752-1763.
- [8] UZI D, BARDA L, SCAIEWICZ V, et al. CHOP is a critical regulator of acetaminophen-induced hepatotoxicity[J]. *J Hepatol*, 2013, 59(3): 495-503.
- [9] LI Y Z, MA Z N, SUN Y S, et al. Protective effects of extracts of *Schisandra chinensis* stems against acetaminophen-induced hepatotoxicity via regulation of MAPK and caspase-3 signaling pathways[J]. *Chin J Nat Med*, 2018, 16(9): 700-713.
- [10] 贺美婷, 高静云, 何明媚, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨山楂叶治疗2型糖尿病的作用机制[J]. *河南中医*, 2023, 43(12): 1845-1855.
HE Meiting, GAO Jingyun, HE Mingmei, et al. Study on the action mechanism of hawthorn leaves in the treatment of type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Henan Traditional Chinese Medicine*, 2023, 43(12): 1845-1855. (in Chinese)
- [11] BAI X, WANG S, SHU L, et al. Hawthorn leaf flavonoids alleviate the deterioration of atherosclerosis by inhibiting SCAP-SREBP2-LDLR pathway through sPLA2-IIA signaling in macrophages in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 327: 118006.
- [12] 胡慧明, 官 扬, 翁家俊, 等. 山楂叶黄酮对高脂血症小鼠的调脂保肝作用及其对肝组织 HMGR、LDLR 表达的影响[J]. *中国现代应用药理学*, 2020, 37(21): 2599-2604.
HU Huiming, GUAN Yang, WENG Jiajun, et al. Effects of hawthorn leaf flavonoids on regulating lipid and protecting liver and the expression of HMGR and LDLR in hyperlipidemia mice[J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2020, 37(21): 2599-2604. (in Chinese)
- [13] SHAO F, GU L, CHEN H, et al. Evaluation of hypolipidemic and antioxidant effects in phenolrich fraction of *Crataegus pinnatifida* fruit in hyperlipidemia rats and identification of chemical composition by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13(52): 725-731.
- [14] FU J H, ZHENG Y Q, LI P, et al. Hawthorn leaves flavo-

- noids decreases inflammation related to acute myocardial ischemia/reperfusion in anesthetized dogs[J]. **Chin J Integr Med**, 2013, 19(8): 582-588.
- [15] YING X X, LI H B, CHU Z Y, et al. HPLC determination of malondialdehyde in ECV304 cell culture medium for measuring the antioxidant effect of vitexin-4"-O-glucoside[J]. **Arch Pharm Res**, 2008, 31(7): 878-885.
- [16] 王雅雯, 张小强. 基于细胞焦亡探讨牡荆素对小鼠肝缺血再灌注损伤的保护作用[J]. **河南大学学报(医学版)**, 2024, 43(3): 168-171.
WANG Yawen, ZHANG Xiaoqiang. Protective effect of Vitexin on hepatic ischemia-reperfusion injury in mice base on pyroptosis[J]. **Journal of Henan University (Medical Science)**, 2024, 43(3): 168-171. (in Chinese)
- [17] 吴成举, 柴纪严, 张文洁. 牡荆素-4"-O-葡萄糖苷大鼠体内药动学研究[J]. **中华中医药学刊**, 2017, 35(8): 2183-2189.
WU Chengju, CHAI Jiyan, ZHANG Wenjie. Study on pharmacokinetics of vitexin-4"-O-glycoside in rats[J]. **Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine**, 2017, 35(8): 2183-2189. (in Chinese)
- [18] QIU J, DONG F, ZHUGE H, et al. Preventive effect of low-carbohydrate high-fat dietary pattern on liver disease caused by alcohol consumption *via* a 6PGD-involved mechanism in mice[J]. **Food Funct**, 2024, 15(2): 732-746.
- [19] 周兴悦, 却翎, 丁雄, 等. 金铁锁三萜类成分对衣霉素诱导RA-FLS细胞内质网应激的影响[J]. **中成药**, 2024, 46(5): 1499-1507.
ZHOU Xingyue, QUE Ling, DING Xiong, et al. Effects of triterpenoids from *Psammosilene tunicoides* on tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress in RA-FLS[J]. **Chinese Traditional Patent Medicine**, 2024, 46(5): 1499-1507. (in Chinese)
- [20] 刘茹佳, 辛小娟. 药物性肝损伤发生机制、危险因素、监测以及再用药的研究进展[J]. **临床肝胆病杂志**, 2023, 39(4): 968-973.
LIU Rujia, XIN Xiaojuan. Research advances in pathogenesis, risk factors, monitoring, and retreatment of drug-induced liver injury[J]. **Journal of Clinical Hepatology**, 2023, 39(4): 968-973. (in Chinese)
- [21] CHURCH R J, KULLAK-UBLICK G A, AUBRECHT J, et al. Candidate biomarkers for the diagnosis and prognosis of drug-induced liver injury: an international collaborative effort[J]. **Hepatology**, 2019, 69(2): 760-773.
- [22] SHU Y, HE D, LI W, et al. Hepatoprotective effect of *Citrus aurantium* l. against APAP-induced liver injury by regulating liver lipid metabolism and apoptosis[J]. **Int J Biol Sci**, 2020, 16(5): 752-765.
- [23] BUNCHORNTAVAKUL C, RAJENDER REDDY K. Acetaminophen (APAP or *N*-acetyl-p-aminophenol) and acute liver failure[J]. **Clin Liver Dis**, 2018, 22(2): 325-346.
- [24] CHANG L, XU D, ZHU J, et al. Herbal therapy for the treatment of acetaminophen-associated liver injury: recent advances and future perspectives[J]. **Front Pharmacol**, 2020, 11: 313.
- [25] 敬悦, 王有根, 杨志慧, 等. 基于抗炎、抗氧化反应探讨石斛多糖改善对乙酰氨基酚致肝损伤的作用机制[J]. **中国药理学通报**, 2024, 40(8): 1539-1545.
JING Yue, WANG Yougen, YANG Zhihui, et al. Mechanisms of *Dendrobium* polysaccharides in alleviating acetaminophen-induced hepatic injury through anti-inflammatory and antioxidant reaction[J]. **Chinese Pharmacological Bulletin**, 2024, 40(8): 1539-1545. (in Chinese)
- [26] LI L, WANG H, ZHANG J, et al. SPHK1 deficiency protects mice from acetaminophen-induced ER stress and mitochondrial permeability transition[J]. **Cell Death Differ**, 2020, 27(6): 1924-1937.
- [27] 张娟, 孙武燕, 王春宝, 等. 基于mTOR信号通路研究黄芩苷对乙酰氨基酚诱导肝损伤后肝修复作用[J]. **中草药**, 2024, 55(13): 4399-4410.
ZHANG Juan, SUN Wuyan, WANG Chunbao, et al. Effect of baicalin on liver repair after acetaminophen-induced liver injury based on mTOR signaling pathway[J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, 2024, 55(13): 4399-4410. (in Chinese)
- [28] 孟庆霖, 褚齐, 宋健, 等. 紫苏叶总黄酮对APAP诱导的急性肝损伤的保护作用[J]. **食品工业科技**, 2024, 45(14): 344-351.
MENG Qinglin, CHU Qi, SONG Jian, et al. Protective effect of total flavonoids of *Perilla frutescens* on APAP-induced acute liver injury[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2024, 45(14): 344-351. (in Chinese)
- [29] 陆永娟, 陈芝芸, 何蓓晖, 等. 山楂叶总黄酮对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏FXR/SREBP-1c表达的影响[J]. **浙江中医杂志**, 2018, 53(9): 634-637.
LU Yongjuan, CHEN Zhiyun, HE Beihui, et al. Effect of total flavonoids from hawthorn leaves on the expression of FXR/SREBP-1c in the liver of rats with non-alcoholic fatty liver disease[J]. **Zhejiang Journal of Traditional Chinese Medicine**, 2018, 53(9): 634-637. (in Chinese)
- [30] LIU W, CHEN X, GE Y, et al. Network pharmacology strategy for revealing the pharmacological mechanism of pharmacokinetic target components of San-Ye-Tang-Zhi-Qing formula for the treatment of type 2 diabetes mellitus[J]. **J Ethnopharmacol**, 2020, 260: 113044.
- [31] YIN J, QU J, ZHANG W, et al. Tissue distribution comparison between healthy and fatty liver rats after oral administration of hawthorn leaf extract[J]. **Biomed Chromatogr**, 2014, 28(5): 637-647.
- [32] WAN J, KUANG G, ZHANG L, et al. Hesperetin attenuated acetaminophen-induced hepatotoxicity by inhibiting hepatocyte necrosis and apoptosis, oxidative stress and inflammatory response *via* upregulation of heme oxygenase-1 expression[J]. **Int Immunopharmacol**, 2020, 83: 106435.

- [33] YAMADA N, KARASAWA T, KIMURA H, et al. Ferroptosis driven by radical oxidation of n-6 polyunsaturated fatty acids mediates acetaminophen-induced acute liver failure[J]. **Cell Death Dis**, 2020, 11(2): 144.
- [34] HE Y, WANG F, YAO N, et al. Serum superoxide dismutase level is a potential biomarker of disease prognosis in patients with HEV-induced liver failure[J]. **BMC Gastroenterol**, 2022, 22(1): 14.
- [35] ZHAO M X, WEN J L, WANG L, et al. Intracellular catalase activity instead of glutathione level dominates the resistance of cells to reactive oxygen species[J]. **Cell Stress Chaperones**, 2019, 24(3): 609-619.
- [36] RAEVENS S, VAN CAMPENHOUT S, DEBACKER P J, et al. Combination of sivelestat and N-acetylcysteine alleviates the inflammatory response and exceeds standard treatment for acetaminophen-induced liver injury[J]. **J Leukoc Biol**, 2020, 107(2): 341-355.
- [37] 石孟琼, 张继红, 周刚, 等. 基于ERK/NF- κ B/COX-2信号通路研究珠子参总皂苷改善对乙酰氨基酚致小鼠肝损伤的作用机制[J]. **中国中药杂志**, 2024, 49(10): 2585-2596.
- SHI Mengqiong, ZHANG Jihong, ZHOU Gang, et al. Mechanism of total saponins of *Panax japonicus* against liver injury induced by acetaminophen in mice based on ERK/NF- κ B/COX-2 signaling pathway[J]. **China Journal of Chinese Materia Medica**, 2024, 49(10): 2585-2596. (in Chinese)
- [38] WANG J L, REN C H, FENG J, et al. Oleanolic acid inhibits mouse spinal cord injury through suppressing inflammation and apoptosis via the blockage of p38 and JNK MAPKs[J]. **Biomed Pharmacother**, 2020, 123: 109752.
- [39] 袁芳, 宋海平, 王聪聪, 等. 冬凌草甲素通过减弱内质网应激诱导的细胞凋亡来改善心肌缺血再灌注损伤[J]. **医学分子生物学杂志**, 2025, 47(2): 180-186.
- YUAN Fang, SONG Haiping, WANG Congcong, et al. Oridonin improves myocardial ischemia-reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis[J]. **Journal of Medical Molecular Biology**, 2025, 47(2): 180-186. (in Chinese)
- [40] 王倩倩, 吴乔, 杨珺丽, 等. Lcn2加重巨噬细胞炎症反应并激活内质网应激和促进凋亡[J]. **中国免疫学杂志**, 2025. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.R.20240921.1555.002.html>.
- WANG Qianqian, WU Qiao, YANG Junli, et al. Lcn2 aggravates macro-phage inflammatory response and activates endoplasmic reticulum stress to promote apoptosis[J/OL]. **Chinese Journal of Immunology**, 2025. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.R.20240921.1555.002.html>. (in Chinese)
- [41] HSIN I L, HSIAO Y C, WU M F, et al. Lipocalin 2, a new *GADD153* target gene, as an apoptosis inducer of endoplasmic reticulum stress in lung cancer cells[J]. **Toxicol Appl Pharmacol**, 2012, 263(3): 330-337.
- [42] 李姚, 王志鑫, 温浩, 等. 内质网应激的信号通路及其与肝脏疾病的关系[J]. **临床肝胆病杂志**, 2020, 36(2): 464-467.
- LI Yao, WANG Zhixin, WEN Hao, et al. Endoplasmic reticulum stress signaling pathway and its association with liver diseases[J]. **Journal of Clinical Hepatology**, 2020, 36(2): 464-467. (in Chinese)
- [43] AJOOLABADY A, KAPLOWITZ N, LEBEAUPIN C, et al. Endoplasmic reticulum stress in liver diseases[J]. **Hepatology**, 2023, 77(2): 619-639.
- [44] XU J, ZHAO L, ZHANG X, et al. Salidroside ameliorates acetaminophen-induced acute liver injury through the inhibition of endoplasmic reticulum stress-mediated ferroptosis by activating the AMPK/SIRT1 pathway[J]. **Ecotoxicol Environ Saf**, 2023, 262: 115331.
- [45] TOGNARELLI E I, RETAMAL-DÍAZ A, FARÍAS M A, et al. Pharmacological inhibition of IRE-1 alpha activity in herpes simplex virus type 1 and type 2-infected dendritic cells enhances T cell activation[J]. **Front Immunol**, 2022, 12: 764861.
- [46] PRINZ E, AVIRAM S, ARONHEIM A. WDR62 mediates TNF α -dependent JNK activation via TRAF2-MLK3 axis[J]. **Mol Biol Cell**, 2018, 29(20): 2470-2480.
- [47] TABAS I, RON D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress[J]. **Nat Cell Biol**, 2011, 13(3): 184-190.
- [48] LIU S, ZHANG X, YAO X, et al. Mammalian IRE1 α dynamically and functionally coalesces with stress granules[J]. **Nat Cell Biol**, 2024, 26(6): 917-931.
- [49] 林建伟, 刘平, 向廷秀, 等. 转录因子XBP1S对人肝癌HepG2细胞增殖及凋亡的影响[J]. **肿瘤**, 2011, 31(1): 11-16.
- LIN Jianwei, LIU Ping, XIANG Tingxiu, et al. Effects of transcription factor XBP1S on cell proliferation and apoptosis of hepatoma HepG2 cells[J]. **Tumor**, 2011, 31(1): 11-16. (in Chinese)
- [50] 关海梅, 张衍, 陈玮钰, 等. IRE1 α /TRAF2/JNK信号通路在急性肝衰竭发展中的作用机制及潜在价值[J]. **临床肝胆病杂志**, 2024, 40(6): 1281-1288.
- GUAN Haimei, ZHANG Kan, CHEN Weiyu, et al. Mechanism of action and potential value of the IRE1 α /TRAF2/JNK pathway in the progression of acute liver failure[J]. **Journal of Clinical Hepatology**, 2024, 40(6): 1281-1288. (in Chinese)

[本文编辑 余方沈敏]