

胡闪闪, 胡红杰, 徐艳萍, 等. 紫丁香苷对 LPS/D-GalN 诱导的急性肝损伤的保护作用研究 [J]. 畜牧与兽医, 2023, 55 (4): 120-126.

HU S S, HU H J, XU Y P, et al. Protective effect of syringin on LPS/D-GalN induced acute liver injury [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2023, 55 (4): 120-126.

紫丁香苷对 LPS/D-GalN 诱导的急性肝损伤的保护作用研究

胡闪闪, 胡红杰, 徐艳萍, 何灵芝, 卢玉洁, 黄伊芹,
程明, 李恭贺*, 司红彬*

(广西大学动物科技学院/亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西南宁 530004)

摘要: 旨在探究紫丁香苷 (syringin, SY) 对脂多糖 (LPS) 联合 D-半乳糖胺盐酸盐 (D-GalN)、(LPS/D-GalN) 诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用及其潜在机制。将 40 只昆明鼠随机分为 4 组, 分别为正常对照组 (NC)、LPS/D-GalN 模型 (LD) 组、SY 低剂量 (LSY+LD) 组、SY 高剂量 (HSY+LD) 组, 每组 10 只。LSY+LD 组、HSY+LD 组采用腹腔注射方式给予 SY (25、50 mg/kg), NC 组和 LD 组分别腹腔注射等量的生理盐水, 连续 3 d, 在第 3 天预防性给药 1 h 后, 腹腔注射 LPS/D-GalN 建立急性药物肝损伤模型。造模 6 h 后, 试验小鼠眼静脉取血, 处死小鼠; 检测小鼠血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 的活性; 检测肝匀浆中超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽还原酶 (GSH)、过氧化氢酶 (CAT) 的水平, 观察肝脏氧化应激的水平; 制作肝组织切片, 采用苏木精伊红 (HE) 观察肝脏的组织变化; 利用免疫组化观察激活的核转录因子 p65 (NF- κ Bp65) 入核状态; ELISA 法检测肝匀浆 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 炎症因子的水平。结果表明: 与 NC 组相比, LD 组 AST、ALT 的水平显著增高 ($P < 0.01$), 肝血管严重出血, 肝脏大面积实质性坏死, 胞核碎裂、崩解, 肝脏中 SOD、GSH、CAT 水平显著降低 ($P < 0.05$), NF- κ Bp65 核转移率提高, 肝脏中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 炎症因子水平显著升高 ($P < 0.01$); SY 组可显著降低小鼠血清中 AST、ALT 的活性 ($P < 0.05$), 肝组织病理变化明显减轻, 肝脏 SOD、CAT 的活性与 GSH 的水平提高 ($P < 0.05$); NF- κ Bp65 核转移发生抑制; IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平显著降低 ($P < 0.05$)。结果表明 SY (25、50 mg/kg) 对 LPS/D-GalN 诱导的小鼠肝脏损伤具有保护作用且具有剂量依赖性, 其作用机制与 SY 可提高抗氧化酶活性, 抑制炎症因子的产生有关。

关键词: 紫丁香苷; 脂多糖 (LPS) 联合 D-半乳糖胺盐酸盐; 急性肝损伤

中图分类号: S853 文献标志码: B 文章编号: 0529-5130(2023)04-0120-07

Protective effect of syringin on LPS/D-GalN induced acute liver injury

HU Shanshan, HU Hongjie, XU Yanping, HE Lingzhi, LU Yujie, HUANG Yiqin,
CHENG Ming, LI Gonghe*, SI Hongbin*

(College of Animal Science and Technology/State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: This experiment was to explore the protective effect and potential mechanism of syringin (SY) on LPS/D-GalN induced acute liver injury in mice. 40 Kunming mice were used and randomly divided into four groups: the normal control group (NC), the LPS/D-GalN model (LD) group, the SY low dose (LSY+LD) group and the SY high dose (HSY+LD) group, with 10 mice in each group. The LSY+LD group and the HSY+LD group were given SY (25 and 50 mg/kg, respectively) by intraperitoneal injection. The NC group and the LD group were intraperitoneally injected with the same amount of normal saline for 3 days. One hour after the preventive administration on the third day, LPS/D-GalN was intraperitoneally injected to establish a model of acute drug-induced liver injury. 6 hours after modeling, blood samples were collected from the ocular vein of the experimental mice which were then killed. Then, the activities of serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected, and the levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GSH) and catalase (CAT) in liver homogenate were detected to observe the level of oxidative stress in the liver. Next, liver tissue sec-

收稿日期: 2022-05-17; 修回日期: 2023-02-21

基金项目: 广西重点研发计划 (桂科 AB19245037); 南宁市科技攻关项目 (20212138)

第一作者: 胡闪闪, 女, 硕士

* 通信作者: 司红彬, 教授, 研究方向为现代中兽药及药物剂型与中西医结合, E-mail: shb2009@gxu.edu.cn; 李恭贺, 副教授, 研究方向为动物疾病与生物技术, E-mail: ligonghe@163.com.

tions were made and stained with hematoxylin and eosin (HE). The immunohistochemical sections of NF- κ Bp65 were made to observe activated NF- κ Bp65 in the nucleus state. Finally, the IL-6 and IL-1 β and TNF- α Levels of inflammatory factors in liver homogenate were detected by ELISA. The results showed that the levels of AST and ALT in the LD group were significantly higher than those in the NC group ($P < 0.01$). Severe hemorrhage of the hepatic ducts and blood vessels, the massive substantive necrosis of the liver, and the fragmentation and disintegration of nucleus were observed. The levels of SOD, GSH and CAT in the liver decreased significantly ($P < 0.05$). The amount of NF- κ Bp65 nucleus increased. The inflammatory factors IL-6, IL-1 β , and TNF- α in the liver increased significantly ($P < 0.01$). The SY group had a significant reduction in the activities of AST and ALT in the serum ($P < 0.05$). The pathological changes in the liver tissue were significantly reduced and the activities of SOD and CAT in the liver and the level of GSH were significantly increased ($P < 0.05$). NF- κ Bp65 nuclear transfer was inhibited, and the IL-6 and IL-1 β , TNF- α Levels were significantly reduced ($P < 0.05$). The above results indicated that SY (25 and 50 mg/kg) had a protective effect on LPS/D-GalN induced liver injury in mice and it was dose-dependent. Its mechanism was similar to that of SY increasing the activity of antioxidant enzymes, and was related to the inhibition of production of inflammatory factors.

Keywords: syringin; LPS/D-GalN; acute liver injury

肝脏对生命至关重要,是许多生理过程关键的枢纽,具有血容量调节、营养素代谢、免疫系统支持、脂质和胆固醇稳态、外源性化合物的分解等重要功能^[1-2]。急性肝损伤是与高死亡率相关的一种严重综合征,多是由于脂多糖(LPS)和醋氨酚(APAP)等药物过量引起的^[2]。过量药物在肝脏的代谢过程中会产生大量的活性氧自由基(ROS),从而使谷胱甘肽还原酶(GSH)含量降低^[3-4],使肝脏产生大量的白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)等促炎因子,这些促炎因子又可与炎症信号通路上的相关蛋白进行特异性结合,如与核转录因子p65(NF- κ Bp65)的特异性位点进行结合,促使NF- κ Bp65磷酸化发生核转移与DNA相应结构区域进行结合,进一步调节下游促炎因子转录,使炎症反应不断加强,炎症细胞因子不断释放导致细胞因子失衡和免疫功能障碍,进而损害肝功能^[5-9],危及生命健康。

紫丁香苷从刺五加中提取,现有研究表明紫丁香苷具有抗癌、抗氧化、免疫调节、保护肝脏、肾以及肺等药理功能^[10-12]。作用机制均与消除氧化自由基、提高抗氧化物酶的活性、抑制机体炎症信号通路的激活、炎症因子的产生有关^[13-15],但有关紫丁香苷保肝作用的机制研究目前较少。本研究旨在通过建立药物性急性肝损伤模型,来探究紫丁香苷对于肝损伤小鼠的保护作用,并探究其发挥作用的潜在机制,为紫丁香苷的应用提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 试剂

紫丁香苷(纯度98%,成都埃法生物科技有限公司);LPS、D-半乳糖胺盐酸盐(D-GalN)购于阿拉丁;丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、GSH、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧

化氢酶(CAT)均购于南京建成生物科技有限公司;鼠源IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、ELISA试剂盒购于南京博研生物科技有限公司;苏木素伊红(HE)染色试剂盒购于索莱宝;一抗(兔抗NF- κ Bp65)、二抗(山羊抗兔),DAB显色液均购于赛维尔生物科技有限公司。

1.2 实验动物

40只SPF级昆明雄性小鼠,体重(22 \pm 2)g,由长沙市天勤生物技术有限公司提供,在清洁级实验鼠房适应性饲养1周,12h昼夜循环,饮水清洁充足,每天给予新鲜鼠粮,平均4g/只,室温维持为(25 \pm 2) $^{\circ}$ C。

1.3 方法

1.3.1 分组与处理

随机将40只小鼠分为4组,每组10只:对照组(NC)、模型组(LD)、紫丁香苷低剂量(LSY+LD)组、紫丁香苷高剂量(HSY+LD)组。低、高剂量紫丁香苷组每天以25mg/kg、50mg/kg剂量通过腹腔注射给药,NC、LD组以同样的方式注射等量的生理盐水。在第3天腹腔给药1h后,LD组、LSY+LD组、HSY+LD组腹腔给予LPS/D-GalN(30 μ g/kg+250mg/kg),NC组给予生理盐水。LPS/D-GalN给药6h后,小鼠眼球静脉采血,全血室温静置2h后移置-4 $^{\circ}$ C冰箱放置12h,-4 $^{\circ}$ C、3000g离心机分离血清,分装并保存于-80 $^{\circ}$ C;采取组织肝脏,称重,并在无菌生理盐水中快速冲洗,采取肝脏左侧小叶放入4%甲醛中固定,剩余肝脏分割放入EP管中,置于-80 $^{\circ}$ C保存,以备后用。

1.3.2 血清及肝脏生化指标检测

根据试剂盒说明书检测血清中AST、ALT活性;肝脏组织中GSH水平,SOD、CAT活性。

1.3.3 ELISA法检测肝脏组织炎症因子水平

将相同质量的肝组织进行匀浆处理,并按照试剂

盒说明书将匀浆进行相同倍数的稀释，然后检测肝组织中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的水平。

1.3.4 肝脏组织病理切片

从固定液中取出肝组织，分割成小组织块，置于烧杯中流水过夜，并在梯度酒精中进行脱水，包埋，切片机连续切割 5 μm 厚的切片，60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烤片 2 h，二甲苯中脱蜡，在梯度酒精中进行复水，采用苏木精伊红 (HE) 染色，分别在 95%，100% 的酒精中脱色 1 min，二甲苯 I，二甲苯 II 中分别透明两分钟，将切片放于通风箱中风干 30 min，封片。

1.3.5 免疫组织化学分析

将组织切片进行上述的脱蜡操作后，在梯度酒精中进行复水；使用柠檬酸抗原修复缓冲溶液 (pH = 7.4) 加热进行抗原修复，3% 双氧水溶液避光孵育 25 min 以阻断内源性过氧化物酶；BSA 封闭、一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜，并用 PBS 洗涤 3 次 (每次 5 min)，二抗孵育 50 min (HRP 标记)；DAB 显色、苏木素

复染胞核 3 min、自来水反蓝，封片。

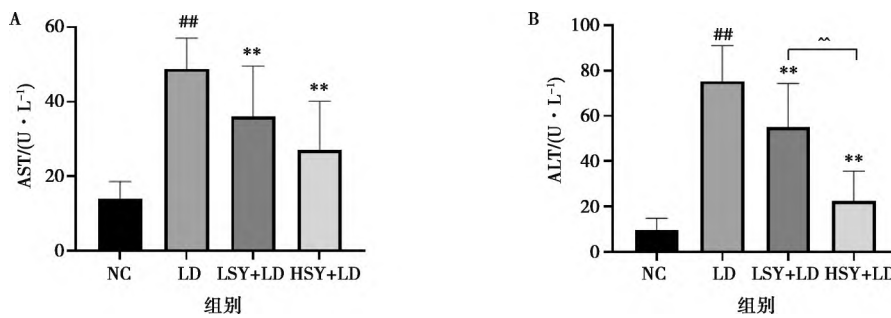
1.3.6 数据分析

试验数据采用 IBM SPSS Statistics 26 进行单因素 ANOVA 检验； $P < 0.05$ 表示差异显著；通过 GraphPad Prism 8 软件、ImageJ 软件进行数据处理。

2 结果

2.1 紫丁香苷对小鼠血清 AST、ALT 活性的影响

由图 1A 可见，LD 组小鼠与 NC 相比 AST 活性升高，且差异极显著 ($P < 0.01$)，LSY+LD、HSY+LD 组与 LD 组相比 AST 活性显著降低 ($P < 0.01$)。由图 1B 可见，LD 组与 NC 相比 ALT 极显著升高 ($P < 0.01$)，LSY+LD、HSY+LD 组与 LD 组相比 ALT 降低，差异极显著 ($P < 0.01$)；HSY+LD 组与 LSY+LD 组相比 ALT 差异极显著 ($P < 0.01$)，AST 无明显差异。



LD 组与 NC 组相比，#表示 $P < 0.05$ ，##表示 $P < 0.01$ ；LSY+LD 组或 HSY+LD 组与模型组相比，* 表示 $P < 0.05$ ，**表示 $P < 0.01$ ；LSY+LD 组与 HSY+LD 组相比，^表示 $P < 0.05$ ，^^表示 $P < 0.01$ 。下同

图 1 ALT、AST 的活性

2.2 小鼠肝脏生化指标

SOD、GSH、CAT 水平如图 2 所示。LD 组与 NC 组相比小鼠肝组织中 SOD 和 CAT 活性、GSH 含量降低，差异显著 ($P < 0.05$)；LSY+LD、HSY+LD 组与

LD 组相比，SOD 和 CAT 活性、GSH 含量显著升高 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)；HSY+LD 组与 LSY+LD 组相比 SOD、GSH 活性差异极显著或显著 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)，CAT 活性无明显差异。

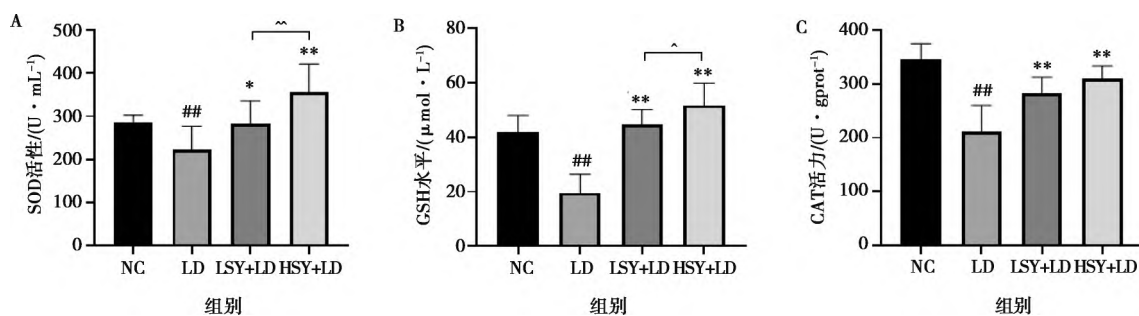


图 2 SOD (A)、GSH (B)、CAT (C) 在肝组织中的活性

2.3 小鼠肝脏组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 炎症因子的水平

小鼠肝脏组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 炎症因子的水平如图 3 所示。LD 组与 NC 组相比小鼠肝组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平升高, 差异极显著

($P < 0.01$); LSY+LD、HSY+LD 组与 LD 组相比, IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平降低, 差异显著或极显著 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); HSY+LD 组与 LSY+LD 组相比 IL-1 β 差异极显著 ($P < 0.01$), IL-6、TNF- α 无显著差异。

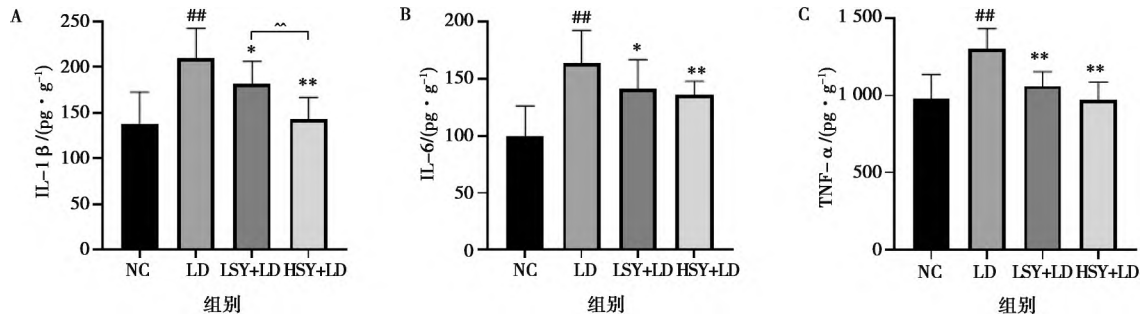
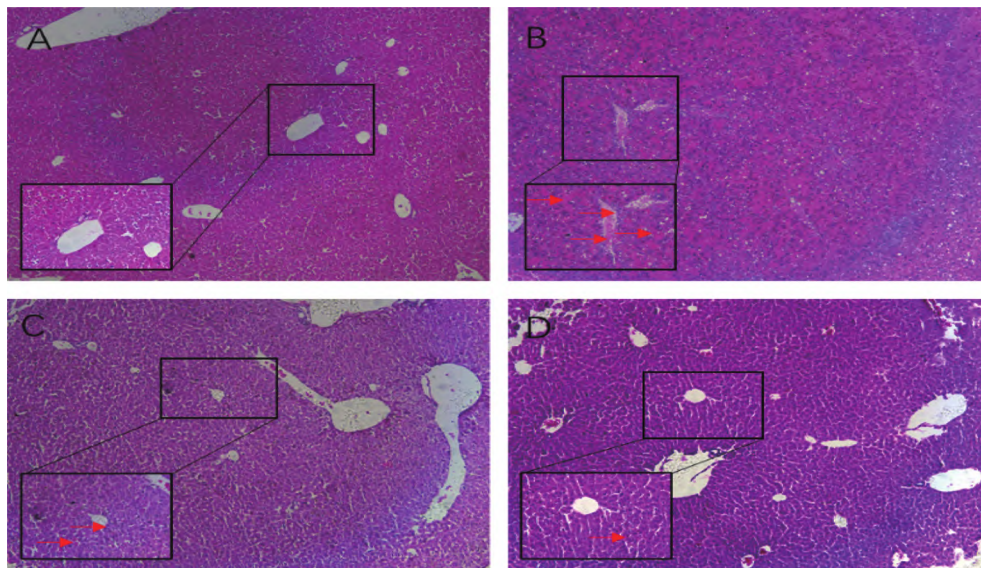


图 3 IL-1 β (A)、IL-6 (B)、TNF- α (C) 在肝组织中的表达水平

2.4 小鼠肝脏病理组织切片

小鼠肝脏病理组织切片观察结果如图 4 所示。NC 组小鼠肝脏, 肝细胞在肝窦, 肝静脉周围呈放射状, 且排列整齐; LD 组小鼠肝脏细胞间出现严重瘀

血, 肝索紊乱, 在肝管周围有大量的淋巴细胞; LSY+LD、HSY+LD 组小鼠肝细胞形态随 SY 浓度增加逐渐趋于正常, 淤血以及炎性浸润减少。



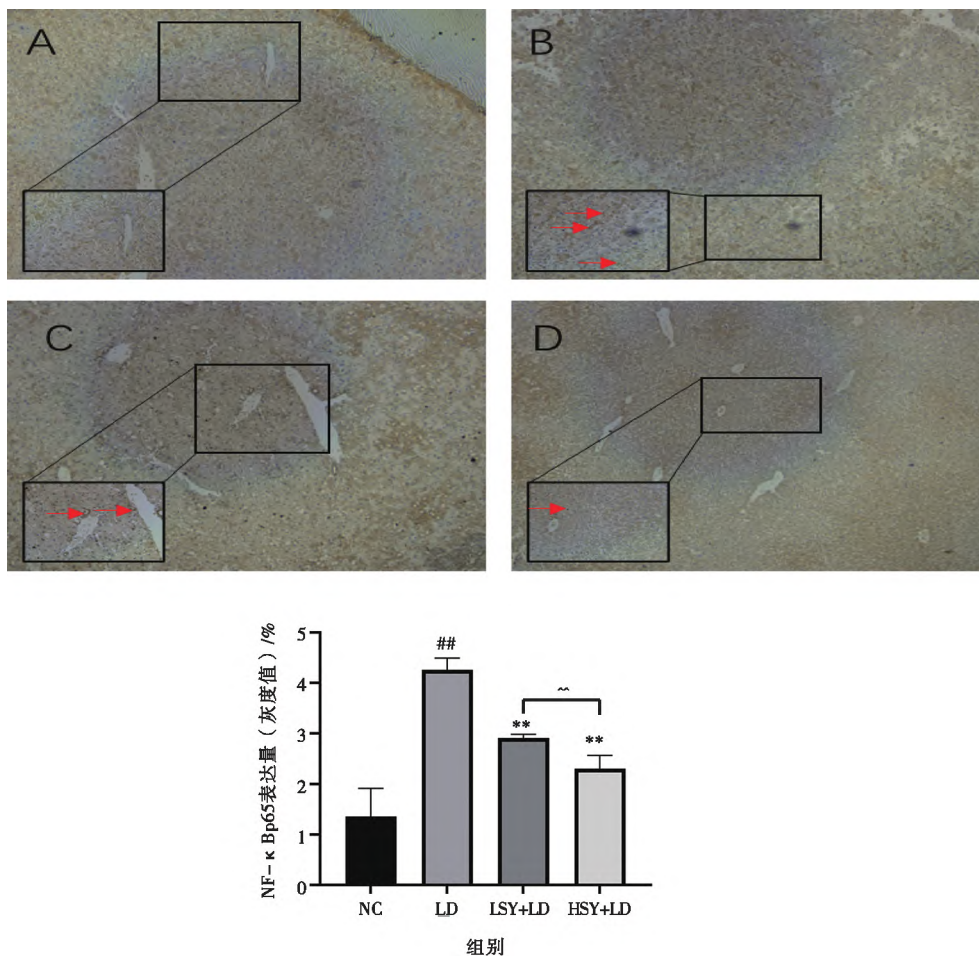
A. NC 组; B. LD 组; C. LSY+LD 组; D. HSY+LD 组;
A、B、C、D 放大 100 \times , 局部放大 400 \times ; 下同

图 4 肝脏病理组织切片 (HE 染色, 100 \times 、400 \times)

2.5 小鼠肝脏 NF- κ Bp65 免疫组化切片

小鼠肝脏 NF- κ Bp65 免疫组化检测结果如图 5 所示。与正常组相比, LD 组核内 NF- κ Bp65 核表达量

增加 ($P < 0.01$), 在 LSY+LD 组、HSY+LD 组中核内 NF- κ Bp65 表达量降低 ($P < 0.01$); HSY+LD 组与 LSY+LD 组相比差异极显著 ($P < 0.01$)。



A. NC 组; B. LD 组; C. LSY+LD 组; D. HSY+LD 组

图 5 免疫组化法 SY 对肝脏组织 NF-κBp65 表达的影响 (DAB 染色, 100 ×、400 ×)

3 讨论

药物性肝损伤 (drug-induced liver injury, DILI) 是由一些传统的化学药物、草药、膳食补充剂以及其他的外源性物质, 通过不同途径进入体内; 或药物代谢产物及由于特殊体质对药物的超敏感性或耐受性降低而导致的肝脏损伤、慢性肝炎、急性肝衰竭等肝功能异常的总称^[18-21]。LPS/D-GalN 联合给药可在短时间内引起严重的肝细胞炎症反应和过氧化应激反应, 其病理特征与临床上病毒性肝炎所造成的损伤相似, 因此, 由 LPS/D-GalN 联合给药建造小鼠肝损伤模型, 被广泛应用于保肝药物的研究。根据已有的文献, 在 LPS/D-GalN (30 ~ 100 μg/kg LPS + 600 ~ 700 mg/kg D-GalN) 联合给药剂量的基础上进行给药剂量的摸索^[22-25]。研究表明, 600~700 mg/kg 的 D-GalN 药物剂量造成的肝损伤无法逆转, 因此本试验降低 D-GalN 的给药剂量进行建模摸索。根据《药物性肝损伤基层诊疗指南》中肝细胞损伤型、混

合型以及肝血管损伤型的模型评判标准, 血清生化学特征 ALT ≥ 3 倍正常上限 (ULN) 即证明肝损伤模型建立成功, 最终确定以 LPS/D-GalN (30 μg/kg + 250 mg/kg) 给药^[26-29]。在本试验中, 与 NC 组相比, LD 组血清中 AST、ALT 的活性显著升高, 且 ALT ≥ 3 ULN, LSY+LD 组与 HSY+LD 组的 AST、ALT 的活性得到逆转, 趋于正常水平; 与 LD 组相比, 紫丁香苷预防给药组随着给药剂量的增加, 肝细胞在中央静脉周围的排列、形态逐渐恢复正常的放射状, 炎性细胞数目减少, 淤血减轻。正常生理情况下机体的抗氧化防御系统如 SOD、CAT 与 GSH 等可以消除过量 ROS, 避免肝脏的氧化应激反应, 维持肝功能正常; 但当肝功能受损时, 抗氧化防御系统的激活受到抑制, 过多的 ROS 无法被完全清除, 从而在肝脏位置发生剧烈得脂质过氧化, 进一步损害肝功能^[30-32]。在本研究中, 给予 LPS/D-GalN 后 SOD、CAT 活性降低, GSH 含量降低, 与现有研究结果相符合; 与 LD 组相比, LSY+LD 组、HSY+LD 组的 SOD、CAT 活性

升高, GSH 含量上调, 且具有剂量依赖性, 证明 SY 可以通过激活机体的抗氧化防御系统, 从而刺激抗氧化酶的产生, 减轻机体的脂质过氧化。此外, LPS/D-GalN 造成肝损伤另一主要原因是 LPS 与巨噬细胞表面的 Toll-4 (TLR4) 受体相结合, 通过 TLR4/MYD88 途径使得 NF- κ Bp65 亚单位 S536 发生磷酸化反应被激活, 从而发生核转位与靶向的 DNA 结构域结合, 调节下游炎性细胞因子的转录, 从而造成炎性因子不可控的增加, 如 IL-6, IL-1 β 、TNF- α 等炎性因子的剧增^[33-37]。本文研究中利用总 NF- κ Bp65 抗体进行免疫组化, 结果表明与 NC 组相比 LD 组 NF- κ Bp65 的核转移率增高, 且与蓝染的细胞核颜色发生重叠呈现乌黑色, IL-6、IL-1 β 、TNF- α 因子的表达显著升高; 在 SY 的干预下 NF- κ Bp65 核转移率下降, IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达显著降低, 证明 SY 可以通过抑制 NF- κ Bp65 的激活, 抑制其发生核转移, 从而抑制了下游的炎性因子的表达, 降低肝脏的炎性反应。

综上, 本试验结果显示紫丁香苷对 LPS/D-GalN 诱导的小鼠急性肝损伤具有保护作用, 其作用机制可能与抑制 NF- κ Bp65 蛋白在肝脏的激活, 抑制炎性因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的产生, 促进肝脏抗氧化酶的产生有关。

参考文献:

- [1] TREFTS E, GANNON M, WASSERMAN D H. The liver [J]. *Current Biology*, 2017, 27 (21): R1147-R1151.
- [2] ZHANG Y, XUE W, ZHANG W, et al. Histone methyltransferase G9a protects against acute liver injury through GSTP1 [J]. *Cell Death Different*, 2020, 27 (4): 1243-1258.
- [3] RANNEY Y, AKIM A M, HAMID H A, et al. Stingless bee honey protects against lipopolysaccharide induced-chronic subclinical systemic inflammation and oxidative stress by modulating Nrf2, NF- κ B and p38 MAPK [J]. *Nutr Metabol*, 2019, 16 (1): 15.
- [4] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: drug-induced liver injury [J]. *J Hepatol*, 2019, 70 (6): 1222-1261.
- [5] GARCIA-CORTES M, ROBLES-DIAZ M, STEPHENS C, et al. Drug induced liver injury: an update [J]. *Arch Toxicol*, 2020, 94 (10): 3381-3407.
- [6] LI J, YIN P, GONG P, et al. 8-Methoxypsoralen protects bovine mammary epithelial cells against lipopolysaccharide-induced inflammatory injury via suppressing JAK/STAT and NF- κ B pathway [J]. *Microbiol Immunol*, 2019, 63 (10): 427-437.
- [7] ZHANG Z, TIAN L, JIANG K. et al. Propofol attenuates inflammatory response and apoptosis to protect d-galactosamine/lipopolysaccharide induced acute liver injury via regulating TLR4/NF- κ B/NLRP3 pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 77: 105974.
- [8] 盛泳佳, 郭丽, 李文燕, 等. 樟芝多糖通过调控炎性小体活化抑制 LPS 诱导的肝巨噬细胞炎症因子释放 [J]. *中药材*, 2020, 43 (5): 1217-1221.
- [9] LI B, CHENG Z, SUN X, et al. Lonicera caerulea L. Polyphenols alleviate oxidative stress-induced intestinal environment imbalance and lipopolysaccharide-induced liver injury in HFD-Fed rats by regulating the Nrf2/HO-1/NQO1 and MAPK pathways [J]. *Molecular Nutr Food Res*, 2020, 64 (10): e1901315.
- [10] ZHANG H, GU H, JIA Q, et al. Syringin protects against colitis by ameliorating inflammation [J]. *Arch Biochem Bio Physic*, 2020, 680: 108242.
- [11] LIU Y, ZHU X, TONG X, et al. Syringin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury via inhibiting neuroinflammation and TLR4 signaling [J]. *Perfusion*, 2021, 2021: 1951878193.
- [12] AVENTURADO C A, BILLONES J B, VASQUEZ R D, et al. In ovo and in silico evaluation of the anti-angiogenic potential of syringin [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 5189-5204.
- [13] SHEN Z, YANG C, ZHU P, et al. Protective effects of syringin against oxidative stress and inflammation in diabetic pregnant rats via TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110681.
- [14] TAN J, LUO J, MENG C, et al. Syringin exerts neuroprotective effects in a rat model of cerebral ischemia through the FOXO3a/NF- κ B pathway [J]. *International Immunopharmacology*, 2021, 90: 107268.
- [15] DAI R, NIU M, WANG N, et al. Syringin alleviates ovalbumin-induced lung inflammation in BALB/c mice asthma model via NF- κ B signaling pathway [J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36 (3): 433-444.
- [16] KUNA L, BOZIC I, KIZIVAT T, et al. Models of drug induced liver injury (DILI) -current issues and future perspectives [J]. *Curr Drug Metab*, 2018, 19 (10): 830-838.
- [17] REAL M, BARNHILL MS, HIGLEY C, et al. Drug-induced liver injury: highlights of the recent literature [J]. *Drug Sat*, 2019, 42 (3): 365-387.
- [18] 沈洪, 倪菲菲, 戴路明, 等. 中药导致药物性肝损伤的研究进展 [C]. 中华中医药学会脾胃病分会第二十四次全国脾胃病学术交流会, 昆明, 2012.
- [19] 赵丽艳, 赵忠鹏, 程艳芹, 等. 中草药导致药物性肝损伤的研究进展 [J]. *中国疗养医学*, 2019, 28 (1): 48-50.
- [20] ZHANG T, CHEN Y, ZHAN Z, et al. Oridonin alleviates D-GalN/LPS-induced acute liver injury by inhibiting NLRP3 inflammasome [J]. *Drug Dev Res*, 2021, 82 (4): 575-580.
- [21] YANG S, KUANG G, ZHANG L, et al. Mangiferin attenuates LPS/D-GalN-induced acute liver injury by promoting HO-1 in Kupffer cells [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 285.
- [22] WANG H, WEI X, WEI X, et al. 4-hydroxybenzo [d] oxazol-2 (3H) -one ameliorates LPS/D-GalN-induced acute liver injury by inhibiting TLR4/NF- κ B and MAPK signaling pathways in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83: 106445.
- [23] 金少举, 郭昆鹏, 黄亚男, 等. 鸟苷酸二钠通过抑制 Caspase3/Bax/Bcl-2 凋亡通路保护 LPS/D-GalN 致小鼠急性肝损伤 [J]. *现代预防医学*, 2021, 48 (3): 4365-4369.
- [24] 赵晨栋, 王萌, 张昊, 等. 连翘提取物对对乙酰氨基酚诱导小鼠肝损伤的保护作用 [J]. *中国畜牧兽医*, 2021, 48 (10): 3845-3854.

- [25] YAN D, LIU H L, YU Z J, et al. BML-111 protected LPS/D-GalN-induced acute liver injury in rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17 (7): 1114
- [26] WANG W, WU L, LI Q, et al. Madecassoside prevents acute liver failure in LPS/D-GalN-induced mice by inhibiting p38/NF- κ B and activating Nrf2/HO-1 signaling [J]. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 2018, 103: 1137-1145.
- [27] 庞小红, 乔倩, VONGLORKHAM S, 等. 委陵菜积雪草酸通过促进肝细胞自噬改善 LPS/D-GalN 所致的小鼠急性肝损伤 [J]. *广西医科大学学报*, 2020, 37 (3): 356-361.
- [28] LI R, YANG W, YIN Y, et al. Protective role of 4-Octyl itaconate in murine LPS/D-GalN-induced acute liver failure via inhibiting inflammation, oxidative stress, and apoptosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9932099.
- [29] HUANG S, MO C, ZENG T, et al. Lupeol ameliorates LPS/D-GalN induced acute hepatic damage by suppressing inflammation and oxidative stress through TGF β 1-Nrf2 signal pathway [J]. *Aging (Albany, NY)*, 2021, 13 (5): 6592-6605.
- [30] BIAN X, LIU X, LIU J, et al. Hepatoprotective effect of chiisanoside from *Acanthopanax sessiliflorus* against LPS/D-GalN-induced acute liver injury by inhibiting NF- κ B and activating Nrf2/HO-1 signaling pathways [J]. *J Sci Food Agric*, 2019, 99 (7): 3283-3290.
- [31] WANG X, WU L, ZHANG Q, et al. Methyl 3, 4-dihydroxybenzoate protects against D-GalN/LPS-induced acute liver injury by inhibiting inflammation and apoptosis in mice [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2019, 71 (7): 1082-1088.
- [32] JIA Y, LU H, PENG Y, et al. Oxyresveratrol prevents lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury in mice [J]. *International immunopharmacology*, 2018, 56: 105-112.
- [33] PENG Z, GONG X, YANG Y, et al. Hepatoprotective effect of quercetin against LPS/D-GalN induced acute liver injury in mice by inhibiting the IKK/NF- κ B and MAPK signal pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 52: 281-289.
- [34] ZHENG X, HU X, MA B, et al. Interleukin-35 attenuates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced liver injury via enhancing interleukin-10 production in Kupffer cells [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9: 959
- [35] LV H, YANG H, WANG Z, et al. Nrf2 signaling and autophagy are complementary in protecting lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury by licochalcone A [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10 (4): 313.