

- of rheumatoid arthritis [J]. *J Pineal Res*, 2019, 66 (3): e12560.
- [15] Pala O, Diaz A, Blomberg B B, et al. B lymphocytes in rheumatoid arthritis and the effects of anti-TNF- α agents on B lymphocytes: a review of the literature[J]. *Clin Ther*, 2018, 40 (6): 1034-1045.
- [16] 郭锦晨, 王 荃, 周 桥, 等. 3种风湿病关节炎处方用药规律的比较[J]. *中成药*, 2021, 43(6): 1583-1588.
- [17] Yang G L, Chang C C, Yang Y W, et al. Resveratrol alleviates rheumatoid arthritis via reducing ROS and inflammation, inhibiting MAPK signaling pathways, and suppressing angiogenesis [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66 (49): 12953-12960.
- [18] 张 青, 徐 月, 彭 伟, 等. 分子对接结合网络药理学研究桂枝芍药知母汤治疗类风湿关节炎的分子作用机制[J]. *中草药*, 2020, 51(18): 4673-4684.

短管兔耳草提取物对对乙酰氨基酚诱导小鼠药物性肝损伤的保护作用与机制

毛 竹, 朱继孝, 曾金祥*, 吴茜娃, 任玲玲
(江西中医药大学中药资源与民族药研究中心, 江西南昌 330004)

摘要:目的 以对乙酰氨基酚 (APAP) 诱导小鼠药物性肝损伤模型, 研究短管兔耳草提取物通过 Toll 样受体 4/核转录因子- κ B (TLR4/NF- κ B) 信号通路对药物性肝损伤的保护作用及机制。方法 60 只昆明种小鼠随机分为正常组、模型组、阳性药物组 (200 mg/kg 乙酰半胱氨酸) 及短管兔耳草提取物低、中、高剂量组 (1、2、4 g/kg), 每组 10 只。各给药组给予相应剂量药物, 正常组和模型组给予等量 0.5% 羧甲基纤维素钠, 连续给药 7 d。末次给药 1 h 后, 除正常组外, 其余各组小鼠腹腔注射 250 mg/kg APAP 建立急性肝损伤模型, 4 h 后采集血样。试剂盒检测血清中天门冬氨酸氨基转移酶 (ALT)、丙氨酸氨基转移酶 (AST) 活性及肝组织中丙二醛 (MDA) 水平、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性, 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素-1 β (IL-1 β) 水平, 苏木素-伊红 (HE) 染色观察肝组织病理变化, 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测肝组织 TLR4、NF- κ B p65 蛋白表达。结果 与模型组比较, 短管兔耳草提取物高剂量组能降低血清中 ALT、AST 活性, TNF- α 、IL-1 β 水平, 升高肝组织中 MDA 水平和 GSH-Px、SOD 活性, 下调 NF- κ B p65、TLR4 蛋白表达, 改善肝组织病理学形态。结论 短管兔耳草提取物对 APAP 致小鼠药物性肝损伤具有一定的保护作用, 其机制可能与 TLR4/NF- κ B 信号通路有关。

关键词: 短管兔耳草; 对乙酰氨基酚; 药物性肝损伤; TLR4/NF- κ B; 肝保护

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)09-3004-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.09.048

药物性肝损伤是指药物本身或/和其活性代谢产物所致的肝损伤, 其与 10% 急性肝炎、50% 以上急性肝衰竭、4% 住院性黄疸有关^[1]。近年来, 我国药物性肝损伤的发病率已超过西方发达国家, 成为严重威胁人们身体健康不可忽视的公共卫生问题^[2]。N-乙酰半胱氨酸 (NAC)、异甘草酸镁、糖皮质激素、水飞蓟素、甘草酸和 S-腺苷基甲硫氨酸常用于治疗急性药物性肝损伤^[3-5], 但 NAC 治疗窗口窄且具有严重的胃肠道毒副作用^[3-4], 而其它药物是否可成功防治药物性肝损伤仍然存在疑问^[5]。

中草药及其成分对药物性肝损伤具有良好的疗效^[6-9], 为筛选抗药物性肝损伤药物提供了重要途径^[10]。藏药短管

兔耳草系玄参科兔耳草属植物 *Lagotisbrevituba* Maxim. 的干燥全草, 为藏药“洪连”的基原植物之一, 具有清热解暑、行血调经之功效^[11]。现代药理学研究表明短管兔耳草具有降尿酸、抗痛风、改善阿尔茨海默病症、调节小鼠免疫功能、抗肿瘤等多种活性^[11-15]。本课题组前期研究发现短管兔耳草可通过清除自由基、抑制脂质过氧化反应、调控炎症因子等途径, 有效防治急性酒精性肝损伤、 α -异硫氰酸萘酯致肝损伤、四氯化碳致肝损伤^[16-18]。最新研究表明, TLR4/NF- κ B 信号通路对肝损伤疾病的防治具有重要研究意义^[19-21]。基于此, 本研究通过 TLR4/NF- κ B 通路继续探讨短管兔耳草提取物对对乙酰氨基酚 (acetaminophen,

收稿日期: 2020-10-25

基金项目: 江西省自然科学基金项目 (20171BAB205090); 江西中医药大学民族药协同创新项目 (JXXT2018001); 江西中医药大学中药双一流学科建设项目 (JXSYLXK-ZHYA0033)

作者简介: 毛 竹 (1993—), 硕士生, 从事民族药有效成分与作用机制研究。Tel: (0791) 87119065, E-mail: 969329843@qq.com

* **通信作者:** 曾金祥 (1974—), 博士, 从事民族药有效成分与作用机制研究。Tel: (0791) 87119065, E-mail: zjinxiang@163.com

APAP) 致药物性肝损伤的保护作用及机制, 以期为抗药物性肝损伤的新药开发提供一定的物质与理论基础。

1 材料

1.1 动物 SPF级健康雄性昆明种小鼠, 体质量(20±2)g, 购自江西中医药大学动物实验动物中心, 实验动物生产许可证号SCXK(赣)2018-0003, 自由饮水, 适应性喂养7d后进行实验, 本实验符合江西中医药大学动物伦理委员会标准。

1.2 药材 短管兔耳草购于成都荷花池药材市场, 经江西中医药大学钟国跃研究员鉴定为玄参科兔耳草属植物短管兔耳草 *Lagotisbrevituba* Maxim. 的干燥全草。称取短管兔耳草100g, 晒干粉碎, 加入10倍体积60%乙醇加热回流提取2h, 过滤提取液, 滤渣再同法提取2次, 合并3次提取液, 用旋转蒸发器减压回收乙醇, 浓缩至无醇味, 得短管兔耳草提取物。以0.5%羧甲基纤维素钠配制高、中、低剂量(给药剂量按生药计分别为4.0、2.0、1.0g/kg, 小鼠灌胃容量为15mL/kg), 给药剂量参考文献以及前期预实验研究确定^[16]。

1.3 试剂 对乙酰氨基酚试剂(批号099K0257)购自美国Sigma公司; *N*-乙酰-*L*-半胱氨酸(批号R018043)购自上海易恩化学技术有限公司; ALT、AST、SOD、MDA、GSH-Px、考马斯亮蓝蛋白定量测定试剂盒(批号C009-2、C010-2-1、A001-3、A003-1、A005、A045-2)购自南京建成生物工程研究所; TNF-α、IL-1β ELISA试剂盒(批号EMC102a、EMC001b)购自深圳欣博盛生物科技有限公司; 苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(批号G1120)购自北京索莱宝科技有限公司; NF-κB p65、TLR4(批号ab16502、ab024751)购自英国Abcam公司; GAPDH、二抗(批号10494-1-AP、SA00001-2)购自美国Proteintech公司。

1.4 仪器 BT25S电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); RE5205旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 超低温冰箱、Multiskan GO全波长酶标仪(美国Thermo公司); 电热恒温烘箱(上海博迅实业有限公司); DY89-II电动匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司); Centrifuge 5430R低温冷冻离心机(德国Eppendorf公司); PowerPac Basic电泳仪、ChemiDoc XR+凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司); WD-9405B水平摇床(深圳沃德生命科技有限公司); H1210捞片机、HistoCore Arcadia C切片机、TP1020-1包埋机(德国Lecia公司); Nikon elipse ci-s生物显微镜(日本尼康公司)。

2 方法

表1 短管兔耳草对小鼠血清ALT、AST活性及TNF-α、IL-1β水平的影响(̄x±s, n=10)

组别	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)
正常组	7.47±1.34	13.7±1.21	51.89±7.88	14.28±3.36
模型组	145.9±2.74 ^{##}	104.97±11.5 ^{##}	821.00±111.51 ^{##}	159.83±23.69 ^{##}
阳性药物组	138.42±2.69 ^{**}	81.85±7.69 ^{**}	419.77±53.22 ^{**}	100.8±8.69 ^{**}
短管兔耳草提取物低剂量组	137.96±4.39 ^{**}	129.39±5.47	837.79±79.94	146.39±19.85 [*]
短管兔耳草提取物中剂量组	134.2±7.83 ^{**}	101.71±10.62	696.09±116.99 [*]	130.52±13.91 [*]
短管兔耳草提取物高剂量组	131.51±4.71 ^{**}	62.65±8.35 ^{**}	247.94±35.01 ^{**}	76.97±5.92 ^{**}

注: 与正常组比较, ^{##}P<0.01; 与模型组比较, ^{*}P<0.05, ^{**}P<0.01。

2.1 造模、分组及给药 将60只昆明种小鼠随机分成6组, 为正常组, 模型组(APAP), 阳性药物组(*N*-乙酰-*L*-半胱氨酸), 短管兔耳草提取物低、中、高剂量组(1.0、2.0、4.0g/kg), 每组10只。短管兔耳草提取物组灌胃给予相应剂量药物, 阳性药物组灌胃给予0.2g/kg *N*-乙酰-*L*-半胱氨酸, 正常组和模型组灌胃给予等量0.5%羧甲基纤维素钠, 每天1次, 连续7d。第7天给药1h后, 正常组小鼠腹腔注射生理盐水, 其余组小鼠腹腔注射250mg/kg APAP(溶于生理盐水)诱导药物性肝损伤。造模后小鼠禁食不禁水, 4h后摘眼球取血, 取血后脱颈处死小鼠, 立即于冰台上迅速取肝脏, 用冷生理盐水漂洗肝脏, 每组取相同部位肝组织(肝大叶)固定于10%甲醛中, 剩余肝组织置于-80℃冰箱保存备用。血液室温下静置1h, 3500r/min离心15min, 取血清, 4℃冷藏备用^[9,22]。

2.2 试剂盒检测血清及肝组织各指标水平 按照试剂盒说明书操作, 检测血清中ALT、AST活性, TNF-α、IL-1β水平及肝组织中MDA水平, GSH-Px、SOD活性。

2.3 HE染色观察肝组织病理学变化 取固定好的小鼠肝组织, 置于包埋盒中流水冲洗过夜, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡浸蜡, 包埋, 切片, HE染色, 中性树胶封片, 于显微镜下观察肝脏病理学变化。

2.4 Western blot检测小鼠肝组织TLR4、NF-κB p65蛋白表达 取50mg肝组织加1mL 2% SDS匀浆, 4℃、12000×g离心10min, 取上清, 采用BCA定量测定蛋白样品浓度。根据浓度制备样品后进行常规电泳, 再将蛋白质转移到PVDF膜上, 5%脱脂牛奶封闭2h, 一抗GAPDH(1:5000)、TLR4(1:3000)、NF-κB p65(1:5000) 4℃下孵育过夜, 洗膜3次, 二抗(1:5000)室温下孵育1h, 洗膜3次, 用ECL发光底物进行显影, 采用Image Lab软件对所得蛋白质条带进行定量分析。

2.5 统计学分析 通过SPSS 21.0软件进行处理, 数据以(̄x±s)表示, 组间比较采用单因素方差分析。P<0.05为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 短管兔耳草提取物对小鼠血清ALT、AST活性及TNF-α、IL-1β水平的影响 如表1所示, 与正常组比较, 模型组小鼠血清ALT、AST活性及TNF-α、IL-1β水平升高(P<0.01), 表明造模成功; 与模型组比较, 阳性药物组和短管兔耳草提取物各剂量组血清ALT、AST活性及TNF-α、IL-1β水平降低(P<0.05, P<0.01), 表明短管兔耳草可有效预防APAP致药物性肝损伤小鼠的肝损伤。

3.2 短管兔耳草提取物对小鼠肝组织 MDA 水平及 GSH-Px、SOD 活性的影响 如表 2 所示,与正常组比较,模型组小鼠肝组织 MDA 水平升高 ($P<0.01$),SOD、GSH-Px 活性降低 ($P<0.01$),说明 APAP 代谢形成的氧化应激产生

了较大的肝损伤;与模型组比较,阳性药物组和短管兔耳草提取物各剂量组 MDA 水平降低 ($P<0.05$),SOD、GSH-Px 活性升高 ($P<0.05$, $P<0.01$),表明短管兔耳草提取物能有效减缓 APAP 致药物性肝损伤小鼠的氧化应激。

表 2 短管兔耳草对小鼠肝组织 MDA 水平及 SOD、GSH-Px 活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	MDA/(nmol·mg prot ⁻¹)	SOD/(U·mg prot ⁻¹)	GSH-Px/(U·mg prot ⁻¹)
正常组	1.83±0.15	163.75±6.81	38.43±5.03
模型组	3.73±0.24 ^{##}	123.78±6.82 ^{##}	20.41±5.03 ^{##}
阳性药物组	1.53±0.16 ^{**}	148.10±12.89 ^{**}	30.59±3.10 ^{**}
短管兔耳草提取物低剂量组	2.67±0.32 [*]	138.08±27.58	25.82±8.15 [*]
短管兔耳草提取物中剂量组	2.35±0.18 [*]	142.10±6.19 ^{**}	27.37±8.83 ^{**}
短管兔耳草提取物高剂量组	2.01±0.17 ^{**}	214.63±15.95 ^{**}	37.75±4.22 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

3.3 短管兔耳草提取物对小鼠肝组织病理学的影响 如图 1 所示,正常组小鼠肝组织结构完整,肝小叶结构清晰,肝细胞排列整齐呈放射状且核圆而清晰,肝组织无炎性细胞浸润现象;模型组小鼠肝组织损伤严重,有大量炎性细胞浸润,肝细胞索排列紊乱,肝细胞间无明显界限,且大量肝细胞坏死;阳性药物组能改善小鼠肝细胞排列,肝组织结构较清晰,炎性细胞浸润及肝细胞坏死数量明显减少;

短管兔耳草提取物低剂量组肝索排列紊乱,肝细胞出现大量核增生及核固缩,大量肝细胞坏死;短管兔耳草提取物中、高剂量组肝组织结构较清楚,肝细胞出现部分核固缩,炎性细胞浸润及肝细胞坏死数量明显减少。以上结果表明,短管兔耳草提取物可有效改善 APAP 致药物性肝损伤小鼠的肝脏病理学形态。

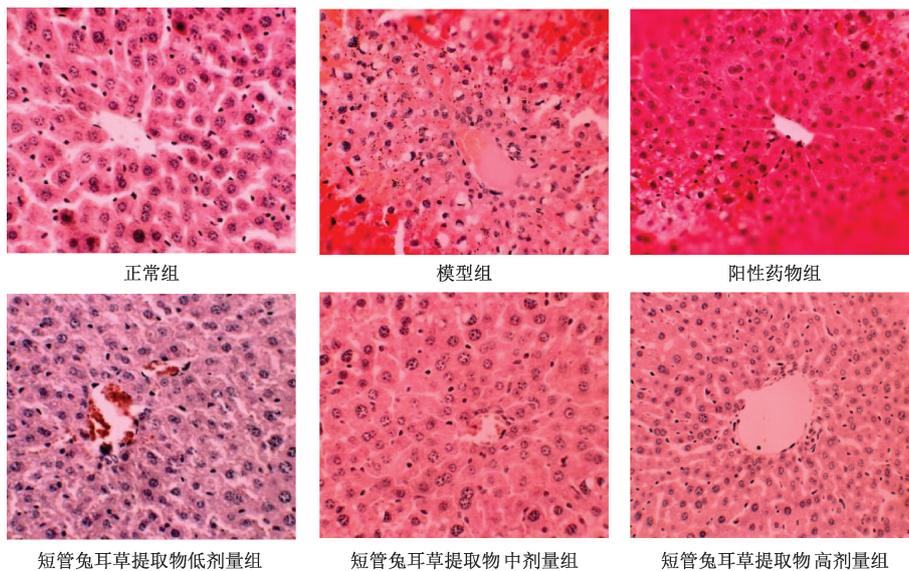


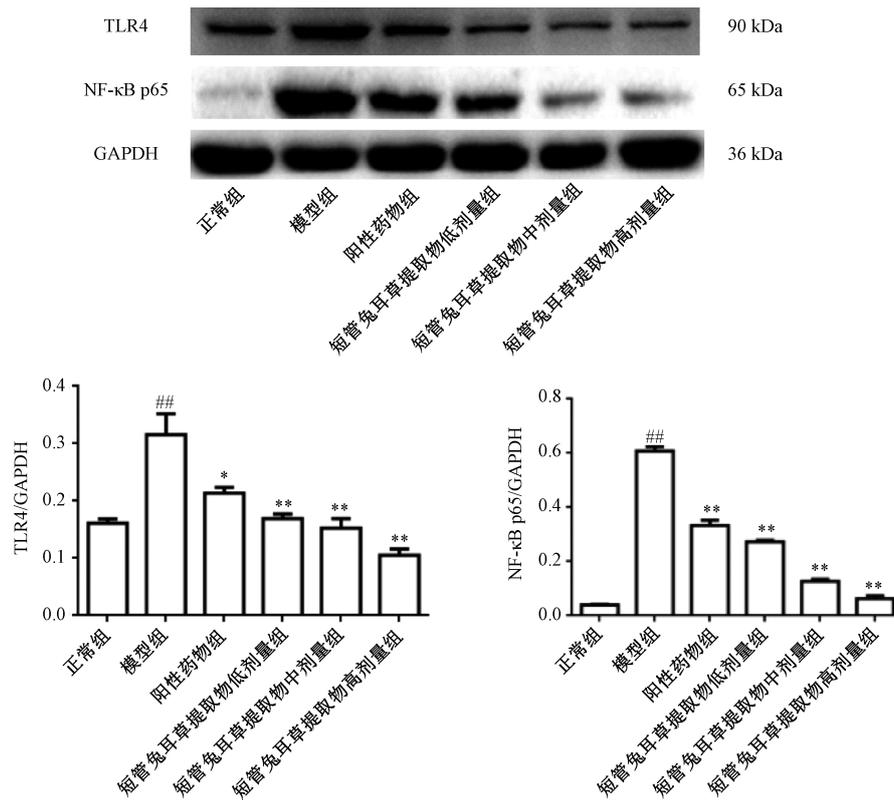
图 1 各组小鼠肝组织病理形态 (HE, ×400)

3.4 短管兔耳草提取物对小鼠肝组织中 TLR4、NF-κB p65 蛋白表达的影响 如图 2 所示,与正常组比较,模型组小鼠肝组织 TLR4、NF-κB p65 蛋白表达升高 ($P<0.01$),说明 APAP 可激活 TLR4/NF-κB p65 信号通路;与模型组比较,短管兔耳草提取物各剂量组 TLR4、NF-κB p65 蛋白表达均降低 ($P<0.01$),说明短管兔耳草提取物对 TLR4/NF-κB 信号通路具有很好的抑制作用。

4 讨论

APAP 为临床上常用的一种解热镇痛药,由于其本身为非处方药且常与其它药物联用,故极易因不规范性使用导致急性肝损伤甚至肝功能衰竭^[23]。APAP 诱导的肝损伤已成为筛选抗药物性肝损伤药物的理想模型^[24]。APAP 在过

量使用情况下,经细胞色素 P450 酶 (CYP450) 代谢生成大量毒性产物 *N*-乙酰对苯醌亚胺 (NAPQI),NAPQI 在耗竭 GSH 之后,可与细胞膜上的蛋白结合,导致肝细胞损伤。同时,APAP 还可诱导产生大量活性氧自由基 (ROS),消耗 SOD、GSH-Px、GSH 等抗氧化剂,导致人体内抗氧化系统失衡,触发细胞内炎症信号通路释放炎症细胞因子,最终导致肝细胞损伤,严重时会导致肝细胞坏死^[25-26]。ALT、AST 及 MDA 等是评价药物性肝损伤程度的常用指标。当发生肝细胞发生损伤时,MDA 水平升高,且细胞中 ALT 和 AST 会释放到血清中导致血清中 ALT 和 AST 活性升高^[7]。本研究显示,短管兔耳草提取物能够降低 APAP 诱导的急性肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 活性,降低肝组织



注：与正常组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。

图2 短管兔耳草提取物对小鼠肝组织 TLR4、NF-κB p65 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

MDA 水平，表明短管兔耳草提取物对 APAP 致药物性肝损伤具有一定的保护作用。短管兔耳草能提升肝组织 SOD 及 GSH-Px 活性，说明其可以通过改善氧化应激减轻 APAP 致药物性肝损伤发挥肝保护作用^[6,8]。

TLR4 属于细胞表面信号转导跨膜受体，广泛表达于 Kupffer 细胞、肝巨噬细胞、肝中性粒细胞及肝树突状细胞等多种肝细胞中，在免疫调节方面发挥着重要作用。NF-κB 在细胞生长、凋亡和炎症反应中发挥调节作用，是重要的核转录因子^[19]。在病理状态下，TLR4 信号通路可激活一系列程序，包括使 NF-κB p65 转移至细胞核内，使炎症细胞因子如 TNF-α、IL-1β 释放等^[21]。其中，TNF-α 由 Kupffer 细胞产生并由 T 细胞激活，是最主要的炎症细胞调节因子^[27]。而 IL-1β 由活化的巨噬细胞产生，在肝细胞坏死中起着重要作用^[28]。这些释放的炎症因子表达过量又可反馈作用于 NF-κB，继而加重炎症反应进一步加深肝组织的损伤^[21]。因此，TLR4/NF-κB 信号通路在抗肝损伤中起着重要作用^[19-21]。本研究结果显示，不同剂量短管兔耳草提取物均能抑制 TLR4 和 NF-κB p65 蛋白表达，使炎症细胞因子 TNF-α 及 IL-1β 水平降低，说明抑制 TLR4/NF-κB 信号通路降低炎症因子水平是短管兔耳草提取物抗 APAP 诱导药物性肝损伤的重要机制。

综上所述，短管兔耳草提取物对 APAP 诱导药物性肝损伤小鼠肝脏具有一定的保护作用，其机制与 TLR4/NF-κB 信号通路有关。目前基于 TLR4/NF-κB 通路对药物性肝损

伤的药理及药效物质研究仍不多见，本课题组将进一步对短管兔耳草化学成分及其药效物质进行研究，为短管兔耳草基于 TLR4/NF-κB 通路抗药物性肝损伤药物开发提供实验依据及物质基础。

参考文献：

- [1] Thanavaro J L. An overview of drug-induced liver injury [J]. *J Nurse Pract*, 2011, 7(10): 819-826.
- [2] Shen T, Liu Y X, Shang J, et al. Incidence and etiology of drug-induced liver injury in mainland China [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(8): 2230-2241.
- [3] 王振花, 李潮生, 李晓丽. N-乙酰半胱氨酸在各系统疾病防治中的研究进展 [J]. *医学综述*, 2019, 25(11): 2138-2142.
- [4] Cai Y, Sun W, Zhang X X, et al. Osthole prevents acetaminophen-induced liver injury in mice [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(1): 74-84.
- [5] Zhu P L, Li J K, Fu X Q, et al. Schisandra fruits for the management of drug-induced liver injury in China: A review [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152760.
- [6] 王茜, 张一听, 石铖, 等. 楮实子对药物性肝损伤大鼠氧化应激因子的影响 [J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(9): 1617-1623.
- [7] 李建桥, 黄文峰, 贺海波, 等. 小花清风藤水提取物对对乙酰氨基酚致小鼠药物性肝损伤保护作用研究 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(6): 1433-1439.

- [8] 贺兰芝, 孟雅坤, 韩延忠, 等. 木犀草素对对乙酰氨基酚诱导的 L02 肝细胞损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(22): 4234-4239.
- [9] 左 玮, 张 波, 梅 丹. 红景天苷对对乙酰氨基酚诱导肝损伤模型小鼠 Keap1-Nrf2 信号通路的影响[J]. 中国药房, 2018, 29(11): 1487-1490.
- [10] 杨华蕊, 徐 妍, 杨永寿, 等. 天然产物抗肝纤维化作用及其机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(14): 214-221.
- [11] 张晨辉, 李 敏, 谢雄雄, 等. 短管兔耳草化学成分的研究(II)[J]. 中成药, 2020, 42(1): 107-111.
- [12] 杨柏龄, 侯 茜, 胡 峰, 等. 短管兔耳草总黄酮降低阿尔茨海默病模型小鼠大脑皮层及海马组织炎性细胞因子的水平[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(7): 881-885.
- [13] 曾金祥, 许兵兵, 李 敏, 等. 藏药短管兔耳草醇提物降低急性高尿酸血症小鼠血尿酸水平及机制研究[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(21): 2489-2493.
- [14] 何树梅, 门连超, 袁东亚, 等. 藏药短管兔耳草醇提物对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 现代免疫学, 2018, 38(1): 59-65.
- [15] 刘雪松, 安方玉, 颜春鲁, 等. 短管兔耳草乙醇提取物对 H₂₂ 荷瘤小鼠的抑瘤作用[J]. 中成药, 2017, 39(8): 1694-1698.
- [16] 史亚夫, 李雪激, 文 乐, 等. 短穗兔耳草和短管兔耳草抗急性酒精肝损伤小鼠作用机制的研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(5): 600-605.
- [17] 朱继孝, 李雪激, 魏春华, 等. 洪连对 ANIT 所致肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(4): 140-144.
- [18] 朱继孝, 张红阳, 李雪激, 等. 两种兔耳草对四氯化碳致肝损伤小鼠保护作用的比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(2): 210-214.
- [19] 张 帆, 任 真, 高 雅, 等. 基于 TLR-4/NF-κB 信号通路研究老鹳草素对四氯化碳致肝损伤小鼠的保肝作用[J]. 中药材, 2018, 41(12): 2906-2910.
- [20] Xu X J, Wang W Q, Lin L, *et al.* Liraglutide in combination with human umbilical cord mesenchymal stem cell could improve liver lesions by modulating TLR4/NF-κB inflammatory pathway and oxidative stress in T2DM/NAFLD rats[J]. *Tissue Cell*, 2020, 66: 101382.
- [21] El-kashef D H, Serrya M S. Sitagliptin ameliorates thioacetamide-induced acute liver injury *via* modulating TLR4/NF-KB signaling pathway in mice[J]. *Life Sci*, 2019, 228: 266-273.
- [22] Li L, Huang W X, Wang S K, *et al.* Astragaloside IV attenuates acetaminophen-induced liver injuries in mice by activating the Nrf2 signaling pathway[J]. *Molecules*, 2018, 23(8): 2032.
- [23] 陈熠媛, 陈硕崑, 张 谢, 等. 对乙酰氨基酚肝毒性研究进展[J]. 浙江医学, 2019, 41(8): 852-853; 858.
- [24] McGill M R, Jaeschke H. Animal models of drug-induced liver injury[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(5): 1031-1039.
- [25] 李青霞, 张玉彬. 对乙酰氨基酚损伤肝线粒体造成肝衰竭的分子机制及应用[J]. 药学进展, 2019, 43(10): 786-792.
- [26] Jaeschke H, Duan L Q, Nguyen N T, *et al.* Mitochondrial damage and biogenesis in acetaminophen-induced liver injury[J]. *Liver Res*, 2019, 3(3-4): 150-156.
- [27] Gantner F, Leist M, Lohse A W, *et al.* Concanavalin A-induced T-cell-mediated hepatic injury in mice: the role of tumor necrosis factor[J]. *Hepatology*, 1995, 21(1): 190-198.
- [28] Cui K L, Yan G X, XU C F, *et al.* Invariant NKT cells promote alcohol-induced steatohepatitis through interleukin-1β in mice[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(6): 1311-1318.