告达庭对大鼠肝损伤的改善作用机制研究Δ

常志惠[1,2*]，补　阳[1,3]，刘　茜[1,3]，马　倩[1,3]，宋　捷[1,3]，孙　娥[1,3]，韦英杰[1,3]，罗　毅[4#]，谭晓斌[1,3]（1.南京中医药大学第三临床医学院，南京　210028；2.南京中医药大学附属连云港市中医院药学部，江苏 连云港　222002；3.中国中医科学院江苏分院/江苏省中医药研究院国家中医药管理局中药口服释药系统重点研究室，南京 210028；4.南京中医药大学附属中西医结合医院肿瘤科，南京　210028）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）05-0531-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.05.04

摘　要　目的　探讨告达庭改善大鼠肝损伤的作用机制。**方法**　将SD大鼠随机分为空白组、模型组和告达庭低、高剂量组（25、50 mg/kg），每组6只。采用腹腔注射（每周3次，连续8周）二乙基亚硝胺（DEN）复制大鼠肝损伤模型。造模第5周，大鼠灌胃相应药物或0.5%羧甲基纤维素钠，连续4周。检测大鼠血清中肝功能指标[丙氨酸转氨酶（ALT）、天冬氨酸转氨酶（AST）、总蛋白（TP）和总胆红素（TBI）]及炎症因子[白细胞介素6（IL-6）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）、IL-1β]水平，观察大鼠肝脏组织病理学形态变化，检测肝脏组织中核因子κB（NF-κB）、78 kDa葡糖调节蛋白（Grp78）蛋白阳性表达水平，检测肝脏组织中内质网应激相关蛋白Grp78、C/EBP同源蛋白（CHOP）、转录激活因子6（ATF6）、肌醇需求激酶1α（IRE1α）的表达水平和蛋白激酶R样内质网激酶（PERK）磷酸化水平。**结果**　与空白组比较，模型组大鼠血清中ALT、AST、TBI、IL-6、TNF-α、IL-1β水平和肝脏组织中NF-κB、Grp78蛋白阳性表达水平以及Grp78、CHOP、ATF6、IRE1α蛋白表达水平和PERK蛋白磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$），血清中TP水平显著降低（$P<0.05$）；肝小叶结构紊乱，肝细胞肿胀，细胞间分界不明显，且伴随炎症细胞浸润。与模型组相比，告达庭各剂量组大鼠上述大部分指标显著逆转（$P<0.05$）；肝小叶结构较完整清晰，细胞排列趋整齐，炎症细胞浸润也有所减少。**结论**　告达庭对DEN所致大鼠肝损伤具有明显的改善作用，其作用机制可能与抑制内质网应激和炎症反应有关。

关键词　内质网应激；告达庭；炎症；肝损伤；二乙基亚硝胺

Study on improvement mechanism of caudatin on liver injury in rats

CHANG Zhihui[1,2], BU Yang[1,3], LIU Qian[1,3], MA Qian[1,3], SONG Jie[1,3], SUN E[1,3], WEI Yingjie[1,3], LUO Yi[4], TAN Xiaobin[1,3]（1. Third Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 2. Dept. of Pharmacy, Lianyungang Hospital of TCM Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Lianyungang 222002, China; 3. Jiangsu Branch of China Academy of Traditional Chinese Medicine/Key Laboratory of New Drug Delivery Systems of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 4. Dept. of Oncology, the Affiliated Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the improvement mechanism of caudatin on liver injury of rats. **METHODS** SD rats were randomly divided into blank group, model group, caudatin low-dose and high-dose groups (25, 50 mg/kg), with 6 rats in each group. Diethylnitrosamine (DEN) was injected intraperitoneally three times per week for eight weeks to establish liver injury model of rats. At 5th week of modeling, the rats received relevant medicine or 0.5% sodium carboxymethylcellulose intragastrically for 4 weeks. The levels of liver function indexes [alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), total protein (TP) and total bilirubin (TBI)] and inflammatory factors [interleukin (IL-6), tumor necrosis factor α (TNF-α), IL-1β] in serum were detected; the histopathological morphological changes of rat liver were observed; the positive protein expressions of nuclear factor κB (NF-κB) and 78 kDa glucose regulatory protein (Grp78) in liver tissue were also determined; the expressions of endoplasmic reticulum stress-related protein Grp78, C/EBP homologous protein (CHOP), activating transcription factor 6 (ATF6) and inositol requiring enzyme 1α (IRE1α) and the level of protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) in liver tissue were detected. **RESULTS** Compared

Δ**基金项目**　国家自然科学基金资助项目（No.81773947）；国家中医药管理局重点研究室建设项目（No.2022GJJZDYJS-01）；江苏省医学创新团队项目（No.CXTDB2017003）

＊**第一作者**　副主任药师。研究方向：中药活性研究及质量控制。E-mail：1456276045@qq.com

＃**通信作者**　主任医师，博士。研究方向：肿瘤的基础研究及中西医结合临床。电话：025-856371215。E-mail：robertluoyi@126.com

with blank group, serum levels of ALT, AST, TBI, IL-6, TNF-α and IL-1β and positive expressions of NF-κB and Grp78 in liver tissue as well as protein expressions of Grp78, CHOP, ATF6 and IRE1α, PERK protein phosphorylation level were all increased significantly in model group ($P<0.05$), while the serum level of TP was decreased significantly ($P<0.05$). The disordered structure of liver lobule, swollen liver cells, unclear intercellular boundary were observed and accompanied by inflammatory cell infiltration. Compared with model group, most of the above indexes were significantly reversed in caudatin groups ($P<0.05$); the structure of hepatic lobule was relatively complete and clear, the cells were arranged orderly, and the infiltration of inflammatory cells was also reduced. **CONCLUSIONS** Caudatin has a significant improvement effect against DEN-induced liver injury in rats, the mechanism of which may be associated with inhibiting endoplasmic reticulum stress and inflammatory reaction.
KEYWORDS endoplasmic reticulum stress; caudatin; inflammation; liver injury; diethylnitrosamine

肝脏承担多种生理机能，其良好的生理状态是维持机体健康的重要保证。病毒、药物、代谢异常及环境因素等都容易使肝脏受到损伤[1]。药物性肝损伤是引发急性肝功能衰竭的主要原因，据估计中国药物性肝损伤的发病率大约为每10万人就有23.8例[2]。目前，导致肝损伤的原因多样且机制复杂，尚缺乏特异性的治疗药物。因此，寻找防治肝损伤的有效药物迫在眉睫。

内质网内环境稳定是实现内质网功能的基本条件。内质网应激（endoplasmic reticulum stress，ERs）是指细胞受内外因素刺激下，内质网形态与功能的平衡状态受到破坏，蛋白质加工和运输受阻，内质网内累积了大量未折叠或错误折叠蛋白质[3]。ERs已成为药物性肝损伤、肝功能衰竭、病毒性肝炎、胰岛素抵抗、脂肪肝、脂肪性肝炎的重要发病机制，对增加肝癌风险具有重要影响[4]。

白首乌为萝藦科植物大根牛皮消 *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight 的块根，具有滋补肝肾、强壮身体、养血补血等功效[5-6]。C_{21}甾苷类成分为白首乌的活性成分，具有保肝、抗炎和抗肿瘤等多种生物活性[7-8]，已有研究报道其保肝作用与减轻氧化应激、抑制核因子κB（nuclear factor-κB，NF-κB）信号通路激活有关[5,9]。ERs与氧化应激之间关系密切，ERs可直接促进内质网中活性氧（reactive oxygen species，ROS）的合成，从而导致肝损伤[10]。告达庭是分离自白首乌的C_{21}甾体苷元（化学结构式见图1），其是否可通过抑制内质网应激减轻肝损伤尚不明确。基于此，本研究采用二乙基亚硝胺（diethylnitrosamine，DEN）诱导肝损伤模型大鼠，探讨告达庭对肝损伤的改善作用机制，以期为告达庭的临床应用提供实验依据。

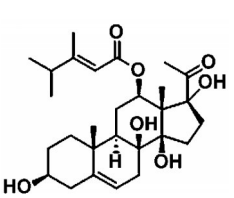


图1 告达庭的化学结构式

1 材料

1.1 主要仪器

7020型自动生化分析仪购自日立株式会社；Thermo MicroCL21型冷冻离心机购自美国Thermo Fisher Scientific公司；Milli-Q型纯水机购自美国Millipore公司；IX73型倒置荧光显微镜购自日本Olympus公司；PECTERAMAX190型酶标仪购自美国Molecular Devices公司；PowerPac型通用电泳仪和Mini-PROTEAN® Tetra cell型垂直电泳转印系统购自美国Bio-Rad公司；Tanon-5200型化学发光凝胶成像系统购自上海天能科技有限公司。

1.2 药物与试剂

告达庭、牛血清白蛋白、DEN、羧甲基纤维素钠购自美国Sigma公司（批号分别为PHL89596、SRE009、N0258、C9481）；大鼠肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunoadsordent assay，ELISA）试剂盒购自美国Biolegend公司（批号分别为438207、437107）；IL-1β ELISA试剂盒购自美国R&D Systems公司（批号RLB00）；蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂购自美国Med Chem Express公司（批号分别为HY-K0010、HY-K0013）；RIPA裂解液、BCA蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司（批号分别为P0013B、P0010）；ECL化学发光显色液购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司（批号E412-01/02）；兔源78 kDa葡糖调节蛋白（78-kD glucose-regulated protein，Grp78）单克隆抗体、兔源肌醇需求激酶1α（inositol-requiring enzyme-1α，IRE1α）单克隆抗体、兔源蛋白激酶R样内质网激酶（protein kinase R-like ER kinase，PERK）单克隆抗体、兔源NF-κB单克隆抗体、兔源β-肌动蛋白（β-actin）单克隆抗体、C/EBP同源蛋白（C/EBP homologousprotein，CHOP）单克隆抗体（批号分别为3177S、3294T、5683T、8242S、93473SF）均购自美国Cell Signaling Technology公司；兔源磷酸化PERK（p-PERK）单克隆抗体购自美国Abcam公司（批号ab192591）；辣根过氧化物酶标

记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗购自美国Affinity公司（批号S0001）。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级雄性SD大鼠，共24只，体质量为（200±20）g，2月龄，由南京凯斯佳生物科技有限公司提供，动物生产合格证号为SCXK（苏）2020-0001。所有大鼠均饲养于光/暗各12 h、室温（25±2）℃、相对湿度（60±5）%的SPF级实验动物中心，自由摄食、饮水。本研究经南京中医药大学附属中西医结合医院实验动物伦理委员会批准，批准编号为AEWC-20200702-119。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

大鼠适应性喂养1周后，随机分为空白组、模型组和告达庭低、高剂量组（25、50 mg/kg，剂量根据前期的实验结果设定[4]，临用时以0.5%羧甲基纤维素钠溶解）。除空白组外，其余各组大鼠均采用腹腔注射DEN（50 mg/kg）的方法构建大鼠肝损伤模型[11]，每周注射3次，连续8周。于造模第5周开始，大鼠灌胃相应药物或0.5%羧甲基纤维素钠，连续4周。大鼠末次给药后空腹8 h，眼眶取血，血样室温静置30 min后，以3 000 r/min离心10 min，取上清液，置于－80 ℃冰箱保存备用。取血完成后，处死各组大鼠，并剖取肝脏组织备用。

2.2 大鼠血清中肝功能指标及炎症因子水平的测定

取各组大鼠血清，采用自动生化分析仪分析血清中肝功能生化指标丙氨酸转氨酶（alanine aminotransferase，ALT）、天冬氨酸转氨酶（aspartate aminotransferase，AST）、总蛋白（total protein，TP）和总胆红素（total bilirubin，TBI）水平；采用ELISA试剂盒测定大鼠血清中炎症因子IL-6、IL-1β、TNF-α的水平。

2.3 大鼠肝脏组织病理学形态观察

取大鼠肝脏组织适量，经4%多聚甲醛固定，乙醇梯度脱水，石蜡包埋后，制成4 μm的切片；然后经苏木素-伊红（HE）染色后，在光镜下观察肝脏组织的病理学变化，并拍照。

2.4 大鼠肝脏组织中NF-κB、Grp78蛋白表达的检测

采用免疫组化法进行检测。取大鼠肝脏组织适量，同“2.3”项下方法制备大鼠肝脏石蜡切片，再进行常规脱蜡复水、抗原修复；取出切片，浸泡于3%过氧化氢溶液中，以灭活内源性过氧化物酶；室温避光孵育10 min，滴加10%山羊血清封闭30 min，滴加Grp78一抗（稀释度为1∶200）、NF-κB一抗（稀释度为1∶1 600），4 ℃孵育过夜。次日，于37 ℃条件下孵育相应二抗30 min；以DAB显色，苏木素复染细胞核，经乙醇脱水、中性树胶封片后，于显微镜下观察。每张切片在显微镜下随机选取5个高倍视野，以棕黄色为阳性染色，采用Image-Pro Plus 6.0软件分析并计算单位测量区域面积内的光密度值，用于评价阳性表达水平。

2.5 大鼠肝脏组织中ERs相关蛋白表达水平的检测

采用Western blot法进行检测。取大鼠肝脏组织60 mg，加入适量RIPA裂解液，同时各加入1%的蛋白酶抑制剂与磷酸酶抑制剂，充分匀浆，冰浴裂解30 min。于4 ℃下以12 000 r/min离心30 min，取上清液，采用BCA法测定蛋白浓度。蛋白经变性后，取30 μg进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转膜；用含5%脱脂奶粉的TBST溶液封闭1.5 h，分别加入Grp78、CHOP、ATF6、PERK、p-PERK、IRE1α一抗（稀释度为1∶1 000）和β-actin抗体（稀释度为1∶5 000），4 ℃孵育过夜；以TBST溶液洗膜3次，每次6 min，滴加辣根过氧化物酶标记的二抗（稀释度为1∶5 000），室温孵育1 h；TBST溶液洗膜3次，每次10 min，滴加ECL发光液，采用化学发光凝胶成像系统采集图像，并应用Image J软件分析蛋白灰度值。以Grp78、CHOP、ATF6、IRE1α与内参β-actin的灰度值比值表示其表达水平；以PERK与p-PERK的灰度值比值表示PERK蛋白的磷酸化水平。

2.6 统计学分析

采用SPSS 19.0软件进行统计分析，数据以$\bar{x}\pm s$表示。多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 告达庭对模型大鼠肝功能生化指标的影响

与空白组相比，模型组大鼠血清中ALT、AST、TBI水平均显著升高（$P<0.05$），血清中TP水平显著降低（$P<0.05$）；与模型组相比，告达庭各高剂量组大鼠血清中ALT、AST、TBI水平均显著降低（$P<0.05$），TP水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表1。

表1 各组大鼠血清中肝功能生化指标的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	ALT/（U/L）	AST/（U/L）	TP/（g/L）	TBI/（μmol/L）
空白组	10.17±2.40	14.67±3.78	58.17±5.38	6.33±0.82
模型组	31.67±3.78[a]	39.50±5.79[a]	51.33±2.73[a]	9.83±1.41[a]
告达庭低剂量组	23.83±2.41[b]	29.50±4.14[b]	57.33±3.67[b]	8.25±0.74[b]
告达庭高剂量组	18.67±2.34[b]	23.17±3.25[b]	58.57±3.39[b]	7.95±0.91[b]

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

3.2 告达庭对模型大鼠血清中炎症因子水平的影响

与空白组相比，模型组大鼠血清中IL-6、TNF-α、IL-1β水平均显著升高（$P<0.05$）；模型组相比，告达庭高剂量组大鼠血清中IL-6、TNF-α、IL-1β水平均显著降低（$P<0.05$），告达庭低剂量组大鼠血清中IL-6水平显著

降低（$P<0.05$）。结果见表2。

表2　各组大鼠血清中炎症因子水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$，pg/mL）

组别	IL-6	TNF-α	IL-1β
空白组	22.31±1.31	12.25±1.43	76.32±2.01
模型组	120.15±2.55[a]	125.62±16.27[a]	590.16±57.33[a]
告达庭低剂量组	90.09±1.68[b]	113.18±18.94	537.92±26.67
告达庭高剂量组	78.65±1.83[b]	96.49±12.86[b]	465.27±55.74[b]

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

3.3　告达庭对模型大鼠肝脏组织病理学形态的影响

空白组大鼠肝小叶结构完整而清晰，肝细胞索呈放射状排列，细胞核呈圆形而居中央位，核质均匀分布且着色较深，肝细胞无坏死，无炎症细胞浸润。模型组大鼠肝小叶结构紊乱，肝细胞与肝细胞索均排列紊乱，肝细胞肿胀，可见点状坏死，细胞间分界不明显，伴随炎症细胞浸润等病理改变，且细胞核多被挤向一侧。与模型组相比，告达庭低、高剂量组大鼠肝组织病理学形态呈现出不同程度的改善，肝小叶结构较完整清晰，细胞排列趋整齐，炎症细胞浸润也有所减少。结果见图2。

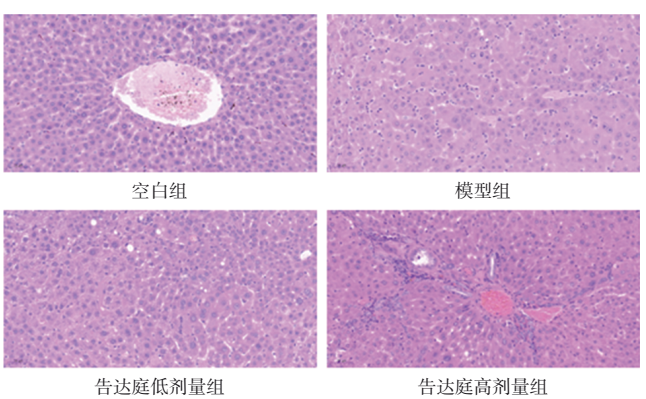


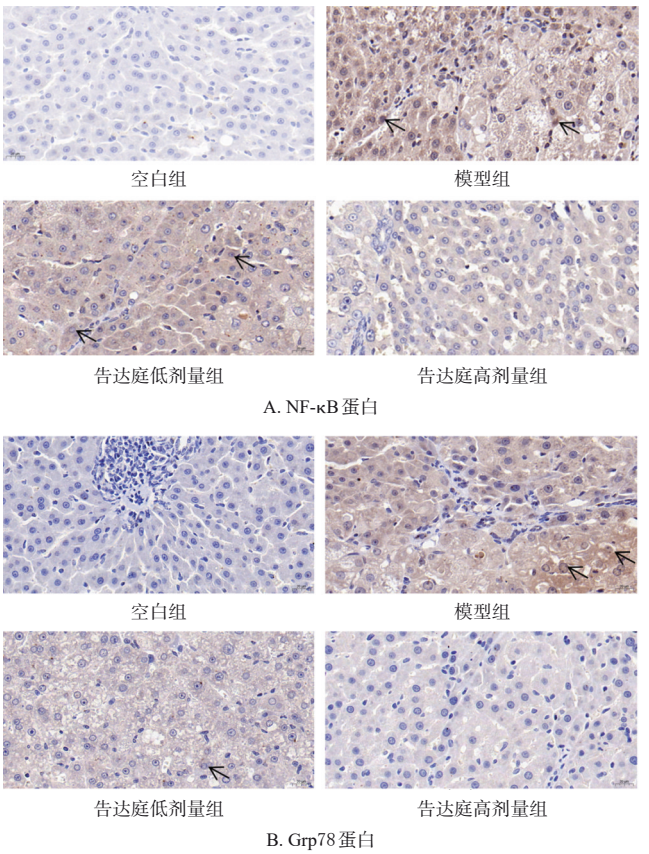
图2　各组大鼠肝脏组织病理学形态的显微图（HE染色，×400）

3.4　告达庭对模型大鼠肝脏组织中NF-κB、Grp78蛋白表达的影响

与空白组相比，模型组大鼠肝脏组织中NF-κB、Grp78蛋白阳性表达水平显著升高（$P<0.05$）；与模型组相比，告达庭各剂量肝脏组织中NF-κB、Grp7蛋白阳性表达水平显著降低（$P<0.05$）。结果见图3、表3。

3.5　告达庭对模型大鼠肝脏组织中ERs相关蛋白表达的影响

与空白组相比，模型组大鼠肝脏组织中Grp78、CHOP、ATF6 、IRE1α蛋白表达水平和PERK蛋白磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组相比，告达庭高剂量组大鼠肝脏组织中Grp78、CHOP、ATF6蛋白表达水平和PERK蛋白磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$），低剂量组大鼠肝脏组织中CHOP、ATF6蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见图4、表4。



注：箭头所指处为目的蛋白的阳性表达区域

图3　各组大鼠肝脏组织中NF-κB、Grp78蛋白表达的免疫组化图（×400）

表3　各组大鼠肝脏组织中NF-κB、Grp78蛋白阳性表达的光密度值测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	NF-κB	Grp78
空白组	0.003 9±0.000 7	0.019 3±0.008 4
模型组	0.203 4±0.025 1[a]	0.273 3±0.022 5[a]
告达庭低剂量组	0.138 7±0.017 6[b]	0.204 6±0.185 7[b]
告达庭高剂量组	0.089 2±0.008 4[b]	0.126 8±0.150 8[b]

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

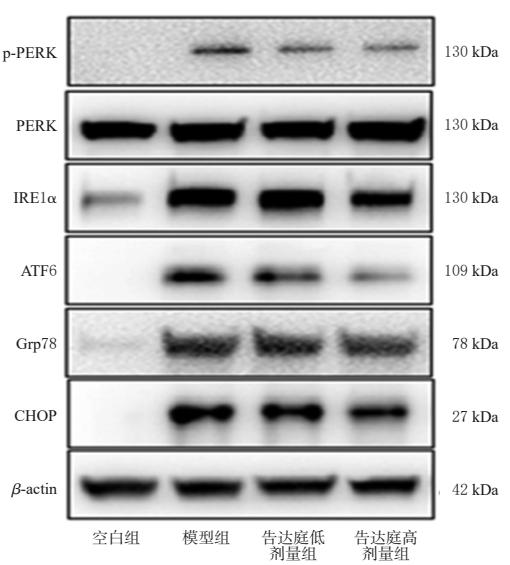


图4　各组大鼠肝脏组织中ERs相关蛋白表达的电泳图

表4 各组大鼠肝脏组织中Grp78、CHOP、ATF6、IRE1α蛋白表达水平和PERK蛋白磷酸化水平的测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	Grp78/β-actin	CHOP/β-actin	ATF6/β-actin	PERK/p-PERK	IRE1α/β-actin
空白组	1.00±0.10	1.00±0.15	1.00±0.12	1.00±0.08	1.00±0.14
模型组	11.71±1.22[a]	87.54±9.19[a]	2.32±0.13[a]	1.90±0.12[a]	4.30±0.48[a]
告达庭低剂量组	9.85±1.01	69.55±0.62[b]	1.44±0.10[b]	1.88±0.12	3.92±0.36
告达庭高剂量组	7.56±0.78[b]	58.19±0.60[b]	1.23±0.09[b]	1.35±0.11[b]	3.52±0.62

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

4 讨论

肝脏不仅是生物转化、代谢合成及解毒的重要器官，还是药物代谢及转化的主要场所，但也是容易受损伤的脏器[12]。白首乌已用于临床治疗肝损伤多年，其中告达庭是其主要活性成分，具有保护肝脏的作用。

DEN是一种*N*-亚硝基-烷基化合物，口服后可引起严重的肝损伤，甚至导致肝癌[13]。因此，本研究采用DEN来诱导肝损伤模型大鼠。ALT、AST、TP和TBI是反映肝功能的重要指标，当肝功能异常时，ALT、AST和TBI的水平升高，而TP则会下降[14]。本研究结果显示，经告达庭干预后，大鼠血清中ALT、AST、TBI水平降低，TP水平升高，且肝脏组织病理形态改善，炎症细胞浸润减少。这表明告达庭对DEN所致大鼠肝损伤具有改善作用。

炎症反应在DEN所致大鼠肝损伤中起着重要作用。据报道，DEN在导致大鼠肝损伤的同时，也促进大鼠血浆中脂多糖水平升高，从而通过Toll样受体4/髓样分化因子88信号通路激活NF-κB，进而促进IL-6、TNF-α和IL-1β的表达[15]。本研究结果显示，经告达庭干预后，大鼠肝脏组织中NF-κB蛋白阳性表达水平降低，血清中IL-1β、IL-6、TNF-α水平均降低。这表明告达庭对DEN所致大鼠肝损伤的改善作用与抑制炎症反应有关。

内质网是碳水化合物代谢、钙储存、蛋白质合成和折叠的主要场所，这些过程中的任何不平衡都可能导致ERs，从而通过激活与内质网膜结合的传感器PERK、IRE1α和ATF6，启动未折叠蛋白反应（unfolded protein response，UPR），以恢复内质网功能[16]。CHOP是UPR调控的典型的ERs所介导细胞凋亡的关键标志物，其表达受IRE1α、PERK和ATF6这3条途径调控[17]。PERK是内质网膜上的Ⅰ型跨膜蛋白，在非应激状态时，其主要定位于内质网内腔并与Grp78结合成无活性的复合物；在ERs时，PERK与Grp78解离后发生自身磷酸化，成为活化状态，从而激活抗氧化应激反应、氨基酸代谢以及细胞凋亡[18]。IRE1α也是一种跨膜蛋白，其活化后可结合并剪切X盒结合蛋白1（X-box-binding protein 1，XBP1），从而上调CHOP表达，进而介导凋亡的发生[19]。ATF6是内质网膜上的Ⅱ型跨膜蛋白，在非应激状态时，其定位于内质网内腔并与Grp78结合；在ERs时，ATF6与Grp78解离后向高尔基复合体转位，继而活化ATF6，从而上调UPR相关基因的转录和表达[20-21]。本研究结果发现，经告达庭干预后，大鼠肝脏组织中ERs相关蛋白Grp78、CHOP、ATF6表达水平和PERK磷酸化水平均降低。这表明告达庭可通过抑制内质网应激改善大鼠肝损伤。

综上所述，告达庭对DEN所致大鼠肝损伤具有明显的改善作用，其作用机制可能与抑制内质网应激和炎症反应有关。

参考文献

[1] MCGILL M R，SHARPE M R，WILLIAMS C D，et al. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation[J].J Clin Invest，2012，122(4)：1574-1583.

[2] SHEN T，LIU Y，SHANG J，et al. Incidence and etiology of drug-induced liver injury in Mainland China[J]. Troenterology，2019，156(8)：2230-2241.

[3] LU M，LAWRENCE D A，MARSTERS S，et al. Opposing unfolded-protein-response signals converge on death receptor 5 to control apoptosis[J]. Science，2014，345(6192)：98-101.

[4] SONG J，DING W B，LIU B J，et al. Anticancer effect of caudatin in diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats[J]. Mol Med Rep，2020，22(2)：697-706.

[5] 崔伟伟，彭蕴茹，丁永芳. 白首乌C_{21}甾体总苷对肝损伤小鼠氧化应激通路的影响[J]. 中国中药杂志，2019，44(14)：2960-2965.

[6] 彭蕴茹，丁永芳，李友宾，等. 白首乌研究现状[J]. 中草药，2013，44(3)：370-378.

[7] LUO Y，SUN Z G，LI Y B，et al. Caudatin inhibits human hepatoma cell growth and metastasis through modulation of the Wnt/β-catenin pathway[J]. Oncol Rep，2013，30(6)：2923-2928.

[8] QIU S，CHO J S ，KIM J T . Caudatin suppresses adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and reduces body weight gain in high-fat diet-fed mice through activation of hedgehog signaling[J]. Phytomedicine，2021，92：153715.

[9] 庄子锐，王明亮，彭蕴茹，等. 白首乌C_{21}甾苷通过TLR4通路防治大鼠肝肾纤维化的作用研究[J]. 中国中药杂志，2021，46(11)：243-250.

[10] DARA L，JI C，KAPLOWITZ N. The contribution of endoplasmic reticulum stress to liver diseases[J]. Hepatology，2011，53(5)：1752-1763.

[11] BINGÜL İ，BAŞARAN-KÜÇÜKGERGIN C，TEKKEŞIN M S，et al. Effect of blueberry pretreatment on diethylnitrosamine-induced oxidative stress and liver injury in rats[J]. Environ Toxicol Pharmacol，2013，36(2)：529-538.

[12] ZEASHAN H，AMRESH G，SINGH S，et al. Hepatoprotective and antioxidant activity of *Amaranthus spinosus*

against CCl_4 induced toxicity[J]. J Ethnopharmacol, 2009, 125(2): 364-366.
[13] SHLOMAI A, DE JONG Y P, RICE C M. Virus associated malignancies: the role of viral hepatitis in hepatocellular carcinoma[J]. Semin Cancer Biol, 2014, 26: 78-88.
[14] 杨波, 吴元凯, 陈忠诚, 等. ALT、AST、TBil及PT变化趋势与慢加急性乙型肝炎肝衰竭预后的关系[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(3): 205-208.
[15] YU L X, YAN H X, LIU Q, et al. Endotoxin accumulation prevents carcinogen-induced apoptosis and promotes liver tumorigenesis in rodents[J]. Hepatology, 2010, 52(4): 1322-1333.
[16] LI J Z, LEE A S. Stress induction of GRP78/BiP and its role in cancer[J]. Curr Mol Med, 2006, 6(1): 45-54.
[17] LEBEAU P, BYUN J H, YOUSOF T, et al. Pharmacologic inhibition of S1P attenuates ATF6 expression, causes ER stress and contributes to apoptotic cell death[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2018, 349: 1-7.
[18] MANSOURI A, GATTOLLIAT C H, ASSELAH T. Mitochondrial dysfunction and signaling in chronic liver diseases[J]. Gastroenterology, 2018, 155(3): 629-647.
[19] YANG Y, LIU L, NAIK I, et al. Transcription factor C/EBP homologous protein in health and diseases[J]. Front Immunol, 2017, 8: 1612.
[20] SALVAGNO C, MANDULA J K, RODRIGUEZ P C, et al. Decoding endoplasmic reticulum stress signals in cancer cells and antitumor immunity[J]. Trends Cancer, 2022, 8(11): 930-943.
[21] PEÑARANDA FAJARDO N M, MEIJER C, KRUYT F A. The endoplasmic reticulum stress/unfolded protein response in gliomagenesis, tumor progression and as a therapeutic target in glioblastoma[J]. Biochem Pharmacol, 2016, 118: 1-8.

（收稿日期：2022-09-18　修回日期：2023-02-04）
（编辑：唐晓莲）

（上接第530页）

[8] 刘红霞, 雷艳军, 龚靖渊, 等. 加减柏子养心丸治疗失眠42例的临床观察[J]. 医疗装备, 2016, 29(2): 156-157.
[9] HOFFMANN G W. A neural network model based on the analogy with the immune system[J]. J Theor Biol, 1986, 122(1): 33-67.
[10] 闫冰, 蒋海琳, 马天姝, 等. 针刺治疗失眠的神经-内分泌-免疫网络机制[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(7): 1696-1698.
[11] AI Z F, HE H W, WANG T T, et al. Validation of the thyrotoxicosis-associated insomnia model induced by thyroxine through sympathetic stimulation: face, construct and predictive perspectives[J]. Exp Neurobiol, 2021, 30(6): 387-400.
[12] 荆然, 李慧峰, 程艳刚, 等. 五味子不同炮制品对小鼠慢性不可预知性应激抑郁的改善作用[J]. 现代药物与临床, 2016, 31(11): 1698-1702.
[13] 李玉洁, 彭慧霞, 夏璐瑶, 等. 六味安神汤对失眠小鼠脑组织不同区域单胺类神经递质水平的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(9): 5323-5328.
[14] 董培良, 刘浈祺, 韩华. 五味子及其药对的研究进展[J]. 中医药信息, 2021, 38(7): 69-73.
[15] 李慧峰, 田凡玉, 孟霜, 等. 酒五味子的指纹图谱建立及化学模式识别分析[J]. 中国药房, 2021, 32(24): 3008-3013.
[16] 夏天吉, 闫明珠, 王智, 等. 大小鼠失眠模型和评价方法研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(3): 428-435.
[17] MEERLO P, DE BRUIN E A, STRIJKSTRA A M, et al. A social conflict increases EEG slow-wave activity during subsequent sleep[J]. Physiol Behav, 2001, 73(3): 331-335.
[18] RODENBECK A, HAJAK G. Neuroendocrine dysregulation in primary insomnia[J]. Rev Neurol (Paris), 2001, 157(11 Pt 2): S57-S61.
[19] 杜旭, 刘娟, 张容超, 等. 逆灸对亚健康状态大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴-5-羟色胺通路的影响[J]. 中医学报, 2020, 35(8): 1742-1746.
[20] MINKEL J, MORETA M, MUTO J, et al. Sleep deprivation potentiates HPA axis stress reactivity in healthy adults [J]. Health Psychol, 2014, 33(11): 1430-1434.
[21] 张誉丹, 毛剑琴, 袁林, 等. 固本健脑液对阿尔兹海默病大鼠生物钟基因Clock、Bmal1及海马Aβ的影响[J]. 世界中医药, 2020, 15(23): 3634-3638, 3645.

（收稿日期：2022-10-25　修回日期：2023-01-30）
（编辑：舒安琴）