

陆姜利,郭玉倩,钱忠义,等. D-半乳糖与 L-谷氨酸诱导树鼩肝组织损伤[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 81-88.

Lu JL, Guo YQ, Qian ZY, et al. D-galactose and L-glutamic acid induced liver tissue injury in tree shrews [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(1): 81-88.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.01.012

D-半乳糖与 L-谷氨酸诱导树鼩肝组织损伤

陆姜利¹,郭玉倩¹,钱忠义²,角建林³,梁张^{3*},郑红^{1*}

(1. 昆明医科大学实验动物学部,昆明 650500; 2. 昆明医科大学基础医学院实验教学中心,昆明 650500;
3. 昆明医科大学技术转移中心,昆明 650031)

【摘要】 目的 探究 D-半乳糖与 L-谷氨酸对树鼩肝组织损伤及机制。**方法** 雄性树鼩随机分为 4 组:对照组(CT 组)、D-半乳糖组(D 组)、L-谷氨酸组(G 组)、D-半乳糖组+L-谷氨酸组(D+G 组),每周称量体重、计算存活率。给药 8 周后,心脏采血处死树鼩,4%多聚甲醛灌注固定肝,进行 HE 和免疫组织化学染色,检测 TLR2、NF-κB 和 P-gp 表达。**结果** 相对于第 1 周,第 8 周 D+G 组树鼩体重下降。G 组、D 组、D+G 组生存率下降,肝细胞变性、水肿、坏死、炎性细胞浸润、中央静脉、门静脉、分支胆管扩张,其中 D+G 组最严重。相对于 CT 组,D 组、G 组和 D+G 组的 TLR2($P<0.05$)、NF-κB($P<0.01$)和 P-gp($P<0.01$)表达均升高;在 3 个处理组中,D+G 组的 TLR2($P<0.05$)、NF-κB($P<0.01$)和 P-gp($P<0.01$)表达显著高于 D 组和 G 组。**结论** D-半乳糖、L-谷氨酸单独或联合给药均可引起树鼩肝组织损伤,联合给药损伤更严重。其机制可能涉及 TLR2/ NF-κB 通路激活,同时 P-糖蛋白代偿性增加。

【关键词】 肝组织损伤;L-谷氨酸;D-半乳糖;TLR2/NF-κB 信号途径;P-糖蛋白
【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 01-0081-08

D-galactose and L-glutamic acid induced liver tissue injury in tree shrews

LU Jiangli¹, GUO Yuqian¹, QIAN Zhongyi², JIAO Jianlin³, LIANG Zhang^{3*}, ZHENG Hong^{1*}

(1. Department of Laboratory Animal Science, Kunming Medical University, Kunming 650500, China.
2. Experimental Teaching Center of Basic Medical College, Kunming Medical University, Kunming 650500.
3. Technology Transfer Centers, Kunming Medical University, Kunming 650031)

Corresponding author: LIANG Zhang. E-mail: ynlml-z@163.com; ZHENG Hong. E-mail: 847255170@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the liver injury mechanism induced by D-galactose and L-glutamic acid in tree shrews. **Methods** Male tree shrews were randomly divided into four groups: the control (CT), D-galactose (D), L-glutamic acid (G) and D-galactose combined with L-glutamic acid (D+G) groups. The weight and survival rates were recorded weekly. Medication was administered for 8 weeks, then the tree shrews were sacrificed. Their livers were perfused with 4% paraformaldehyde for hematoxylin and eosin and immunohistochemical staining to detect TLR2, NF-κB and P-glycoprotein (P-gp) expressions. **Results** The body weights in the D+G group were lower at week 8 than at week 1. The survival rates in the G, D and D+G groups decreased compared with that of the CT group. Hepatocytic degeneration, edema, necrosis and inflammatory cell infiltration occurred in addition to dilatation of the central and portal vein and the

【基金项目】 云南省应用基础研究计划项目(2017FE468-014,2017FE468-016);云南省教育厅科学研究项目(2018Y048);昆明医科大学创新基金项目(2019S093)。

Funded by the Applied Basic Research Project of Yunnan Province(2017FE468-014, 2017FE468-016),Scientific Research Project of Yunnan Education Department(2018Y048)and Innovation Project of Kunming Medical University(2019S093) .

【作者简介】 陆姜利(1992—),女,在读硕士研究生,研究方向:药理学。Email:1311345248@qq.com

【通信作者】 郑红(1969—),女,教授,博士,研究方向:比较医学。Email:847255170@qq.com;

梁张(1966—),女,副教授,硕士,研究方向:药理学。Email:ynlml-z@163.com。

* 共同通信作者

branch bile duct in the livers of the G, D and D+G groups. Compared with CT group, the expressions of TLR2 ($P < 0.05$), NF- κ B ($P < 0.01$) and P-gp ($P < 0.01$) were significantly increased in the D, G and D+G groups and were significantly higher in the D+G group than in the D or G groups. **Conclusions** D-galactose and/or L-glutamic acid induce liver tissue injury in tree shrews, which may be involved in activating TLR2/NF- κ B signaling and P-gp.

[Keywords] liver tissue injury; L-glutamic acid; D-galactose; TLR2/NF- κ B signal; P-glycoprotein

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肝是人体新陈代谢的主要器官,具有十分重要和复杂的生理功能^[1]。化学物质是导致临床常见肝损伤的因素。通过胃肠道门静脉或体循环进入肝进行转化,有毒物质使肝组织受到损害,表现为肝细胞变性、坏死,肝功能障碍,进而发展为肝硬化,甚至引起肝衰竭、肝癌、肝性脑病等^[2-3]。肝疾病对人类健康危害巨大,目前肝疾病的治疗仍然是世界性难题,建立实验性肝损伤动物模型,有助于肝疾病发病机制的研究、筛选保肝药物。实验性肝损伤动物模型已成为发病机制和药物研发的重要工具。

1968 年,首次报道 D-半乳糖 (D-galactose, D-gal) 引起肝损伤^[4]。目前, D-gal 已被广泛应用于建立实验性衰老、肝损伤等疾病模型^[5-8]。D-gal 是动物体内正常的营养成分,机体在正常情况下将 D-gal 转化为葡萄糖-6-磷酸。过量摄入则会引起机体细胞内大量 D-gal 堆积,导致氧化应激-自由基损害,破坏细胞线粒体、DNA 和蛋白质等,进而出现器官损伤^[9-10]。L-谷氨酸 (glutamate, Glu) 是中枢神经系统内最主要的一种兴奋性神经递质,参与机体正常生理活动,但是大量谷氨酸能够引起神经兴奋性毒性,导致神经元的肿胀、凋亡与坏死,谷氨酸诱导肝损伤未见报道^[11-12]。因此, D-半乳糖和 L-谷氨酸联合作用是增强或降低肝毒性,值得探索。

Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR) 最早在果蝇体内发现, TLRs 家族是介导炎症反应的关键受体蛋白,其中 TLR2 通过刺激触发骨髓分化因子 88 依赖性信号传导可增强核转录因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 的活化,激活炎症反应^[13-17]。研究表明 TLR2/NF- κ B 信号通路在肝损伤中起到重要作用,在肝损伤时二者表达均升高^[18]。P 糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 是一种药物转运体,在肝中主要介导疏水性阳离子的外排,降低细胞内的药物浓度。有研究发现 P-gp 在肝损伤发生时,表达上调^[19-20]。

本研究给予树鼩 D-半乳糖和 L-谷氨酸,探索复合因素的实验性肝损伤动物模型。通过检测 TLR2/

NF- κ B 和 P 糖蛋白的表达,初步探究树鼩肝损伤的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

28 只雄性 10 月龄树鼩,体重 (136 ± 20) g,购自昆明医科大学实验动物学部【SCXK (滇) K2015-0002】,饲养于昆明医科大学普通级实验室【SYXK (滇) K2015-0002】。实验操作符合实验动物伦理学要求【伦理审批号: KMMU2019017】。

1.1.2 主要仪器与试剂

组织包埋机 (Leica, 美国), 切片机 (Leica, 美国), 摊片烤片一体机 (Leica, 美国), 生物显微镜 (Leica, 美国), L-谷氨酸 (Sigma, 美国), D-半乳糖 (Sigma, 美国), Anti-P Glycoprotein (Abcam, ab170904), Anti-NF- κ B p65 (Abcam, ab32536), Anti-TLR2 (Abcam, ab209216)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物的分组、给药及取材

将 28 只健康雄性树鼩随机分为 4 组,每组 7 只。分别为对照组 (CT 组,灌胃生理盐水 8 mL/kg)、L-谷氨酸组 (G 组,灌胃 2000 mg/kg)、D-半乳糖组 (D 组,腹腔注射 600 mg/kg)、D-半乳糖联合 L-谷氨酸组 (D+G 组,腹腔注射 D-半乳糖 600 mg/kg;灌胃 L-谷氨酸 2000 mg/kg),每天给药 1 次,持续 8 周。每周称量动物体重,记录存活数。心脏采血处死树鼩后,4%多聚甲醛灌注固定脏器,取肝组织立刻置于 4%多聚甲醛 48 h,透明,浸蜡,包埋。

1.2.2 组织学染色检测

蜡块切片,脱蜡。HE 染色:苏木素染色,用水冲洗后盐酸酒精分化,伊红染色,脱水封片。免疫组织化学染色:柠檬酸组织抗原修复液于高压锅里煮 2 min, PBS 冲洗 3 次;过氧化氢孵育 15 min, PBS 冲洗 3 次;用一抗孵育于 4 度冰箱过夜, PBS 冲洗 3 次;二抗孵育 15 min, PBS 冲洗 3 次;DAB 显色液孵育 3 min,显微镜观察显色后用 PBS 冲洗终止显色;

苏木素染色 4 min,水冲洗,盐酸酒精分化 6 s,用水返蓝至镜下观察细胞核为蓝色;脱水封片。

1.3 统计学分析

用 Image J 对树鼩肝组织免疫组化染色结果进行处理,计算阳性面积占比及平均光密度值;应用 Graphpad prism 7 对阳性面积占比及平均光密度值作图并进行组间 One-way ANOVA 法分析, $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 L-谷氨酸与 D-半乳糖处理对树鼩体重和存活率的影响

如图 1A 所示,给药第 1 周,各组树鼩平均体重均有所下降。与第 1 周相比,树鼩第 8 周的平均体重均上升的是 CT 组 (13%)、G 组 (12%)、D 组 (6%),而 D+G 组体重下降 6%。如图 1B 所示,给药 8 周后,CT 组的存活率为 100%,G 组为 87.5%,D 组为 54.55%,D+G 组 70%。

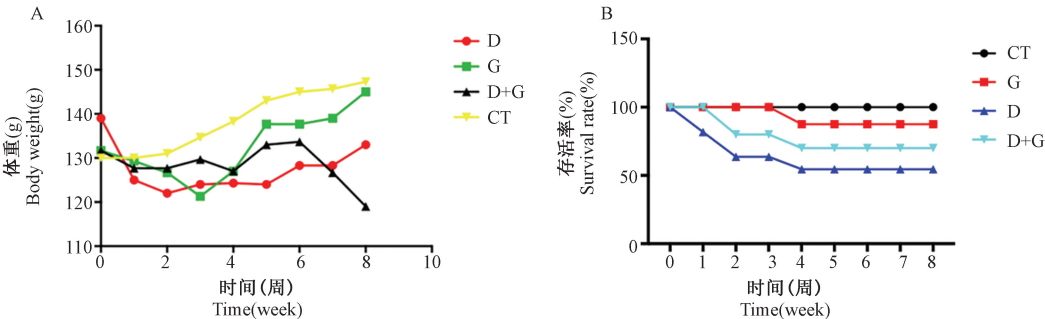


图 1 L-谷氨酸与 D-半乳糖对树鼩体重(A)和存活率(B)的影响

Figure 1 Changes of the body weight(A) and survival rate(B) in tree shrews after intervention

2.3 L-谷氨酸与 D-半乳糖处理增加了树鼩肝 Toll 样受体 2 (TLR2) 的表达

IHC 染色显示,TRL2 主要在肝血窦与细胞膜上表达(图 3A)。G 组 ($P<0.05$)、D 组 ($P<0.05$)、D+G 组 ($P<0.05$) 的 TRL2 阳性面积占比(图 3B)、平均光密度值均显著高于对照组(图 3C)。在 3 个处理组中,D+G 组 ($P<0.05$) 的阳性面积占比、平均光密度值均显著高于 G 组和 D 组。

2.4 L-谷氨酸与 D-半乳糖处理增加了树鼩肝核转录因子 κ B (NF- κ B) 表达

NF- κ B 主要表达定位于肝血窦膜上。L-谷氨酸、D-半乳糖及 L-谷氨酸联合 D-半乳糖均能增加肝 NF- κ B 表达(图 4A)。G 组、D 组、D+G 组 NF- κ B 的阳性面积占比(图 4B)、平均光密度值均极显著高于对照

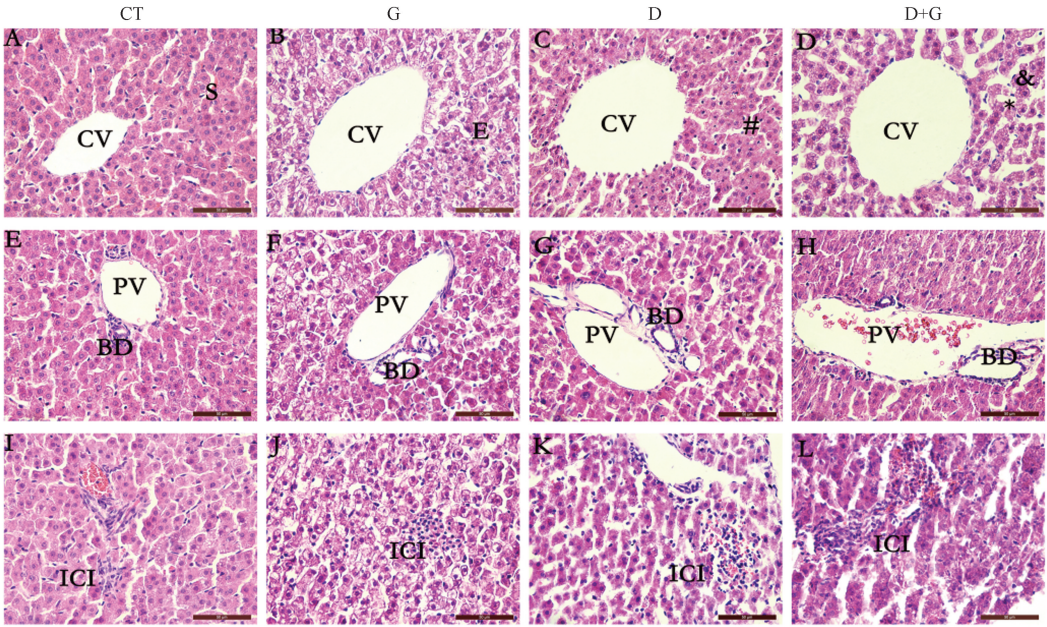
2.2 L-谷氨酸与 D-半乳糖处理对树鼩肝组织的影响

组织病理学的结果显示,CT 组树鼩肝细胞索呈放射状排列,从中央静脉(central vein,CV)辐射并通过血窦(blood sinusoids,S),肝细胞形态良好(图 2A)。门静脉(portal vein,PV)区域有分支胆管(bile ducts,BD)(图 2E);少量炎症细胞浸润(图 2I)。G 组可见肝细胞水样变性,部分细胞坏死,肝细胞水肿(edema,E),中央静脉扩张(图 2B);门静脉、分支胆管扩张(图 2F);炎症细胞浸润较明显(图 2J)。D 组肝细胞排列紊乱,结构较模糊,可见核固缩(#),CV 扩张(图 2C);PV、BD 扩张(图 2G);炎症细胞浸润加重(图 2K)。D+G 组损伤更为严重,可见肝细胞脂肪变性(&),细胞核空泡化(*),细胞索状消失,肝血窦明显增宽,肝细胞呈游离状态、数量减少,CV 扩张(图 2D);PV 和 BD 扩张明显(图 2H);有大量的炎症细胞浸润(inflammatory cell infiltration,ICI)(图 2L)。

组(图 4C) ($P<0.01$)。相对于 G 组和 D 组,D+G 组的阳性面积占比、平均光密度值均显著升高 ($P<0.01$)。

2.5 L-谷氨酸与 D-半乳糖处理增加了树鼩肝 P-糖蛋白 (P-gp) 的表达

免疫组化表明树鼩肝 P-gp 表达主要在细胞核与细胞膜上(图 5A)。与 CT 组比较,G 组、D 组、D+G 组 P-gp 的阳性面积占比(图 5B)、平均光密度值均及显著升高 ($P<0.01$) (图 5C)。D+G 组的阳性面积、平均光密度值极显著高于 G、D 组 ($P<0.01$)。提示 L-谷氨酸、D-半乳糖及 L-谷氨酸联合 D-半乳糖均能引起肝 P-糖蛋白表达增加,以介导药物外排,其中 L-谷氨酸联合 D-半乳糖的药物外排作用显著高于单独给药。

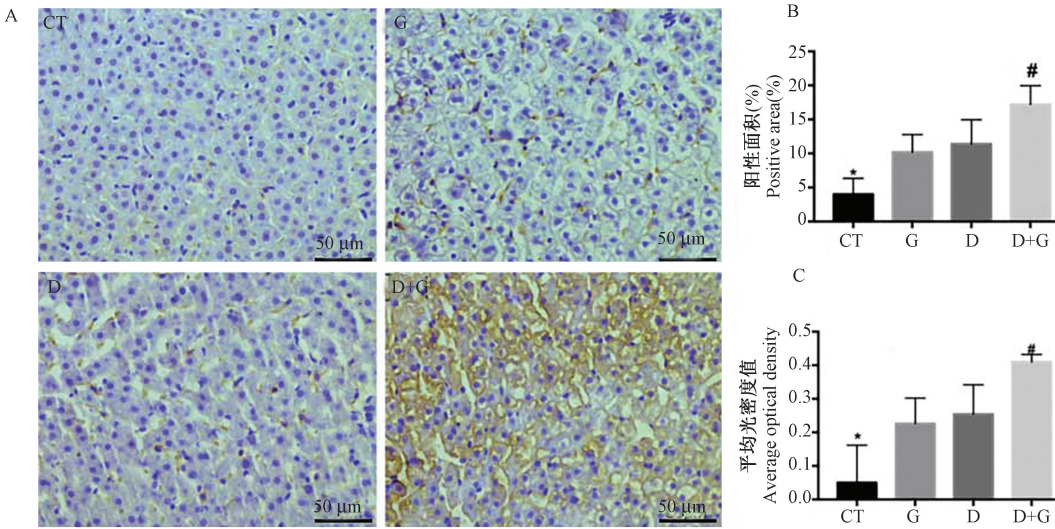


注:CT 组(AEI), G 组(BFJ), D 组(CGK), D+G 组(DHL); A-D 中, CV, S, E, #, &, * 分别表示中央静脉(central vein, CV), 血窦(blood sinusoids, S), 肝细胞水肿(edema, E), 核固缩(#), 肝细胞脂肪变性(&), 细胞核空泡化(*); E-H 中, PV, BD 分别表示门静脉(portal vein, PV), 分支胆管(bile ducts, BD); I-L 中, ICI 表示炎症细胞浸润(inflammatory cell infiltration, ICI)。

图 2 树鼩肝组织形态

Note. CT group (AEI), G group (BFJ), D (CGK), D+G group (DHL). A-D, CV, S, E, #, &, * represent central vein, blood sinusoids, Hepatoedema, Nuclear pyknosis, Cell steatosis, Cell vacuolation. E-H, PV and BD represent portal vein, bile ducts. I-L ICI represent inflammatory cell infiltration.

Figure 2 Histological structure in liver tissue

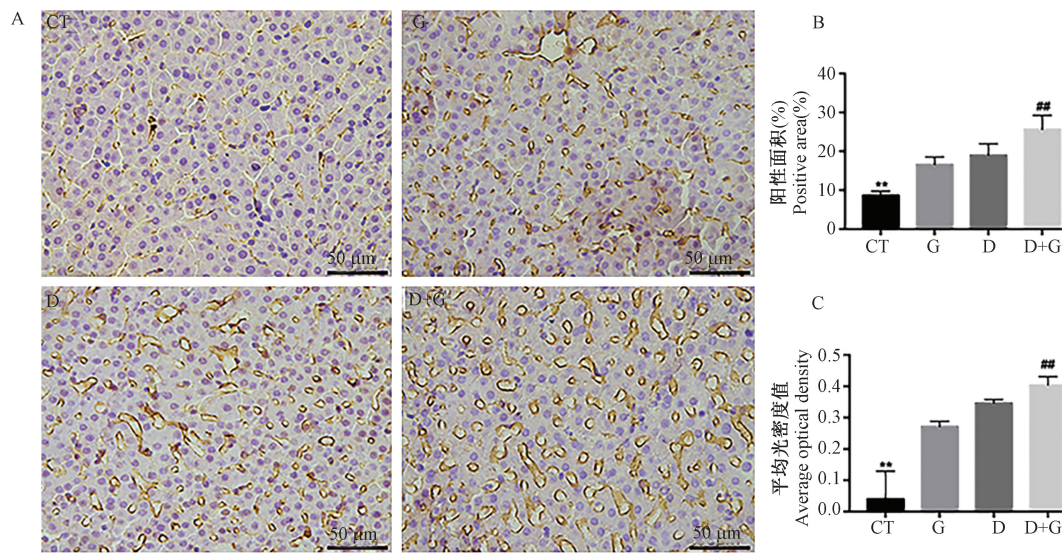


注:A: 各组树鼩TLR2 图片(IHC 染色)。B, C: CT 组与 G, D, D+G 组相比, * $P < 0.05$, D+G 组与 G, D 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 3 树鼩肝组织 TLR2 的表达

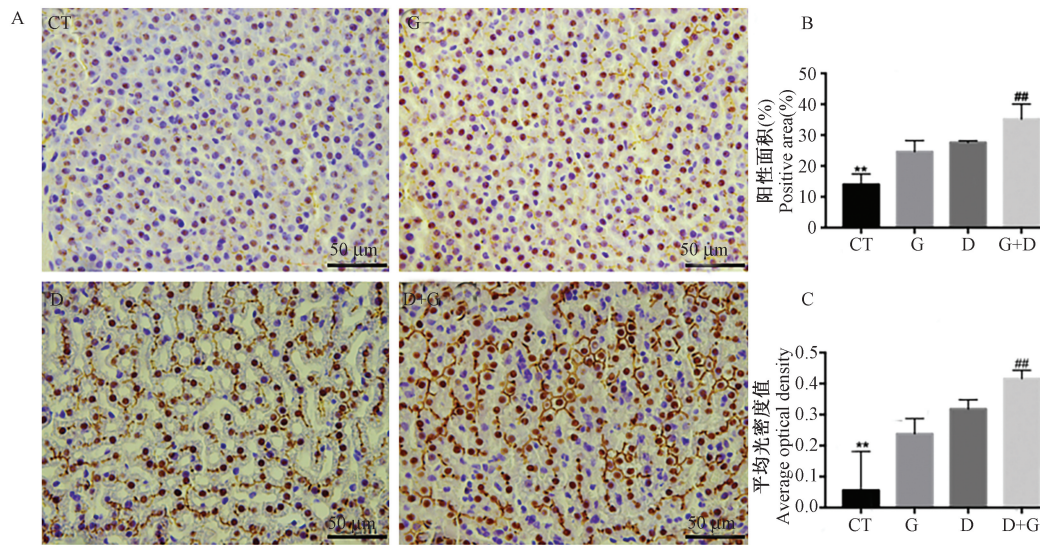
Note. A, Immunohistochemical staining of TLR2 (IHC staining). B, C, CT group compared with G, D, D+G group, * $P < 0.05$. D+G group compared with G, D group, # $P < 0.05$.

Figure 3 Expression of TLR2 in liver tissue



注:A: 各组树鼩 NF-κB 图片(IHC 染色)。B,C: CT 组与 G,D,D+G 组相比, ** $P < 0.01$; D+G 组与 G,D 组相比, ## $P < 0.01$ 。
图 4 树鼩肝组织 NF-κB 的表达
Note. A, Immunohistochemical staining of NF-κB (IHC staining). B, C, CT group compared with G, D, D+G group, ** $P < 0.01$. D+G group compared with G, D group, ## $P < 0.01$.

Figure 4 Expression of NF-κB in liver tissue



注:A: 各组树鼩 P-gp 图片(IHC 染色)。B,C: CT 组与 G,D,D+G 组相比, ** $P < 0.01$; D+G 组与 G,D 组相比, ## $P < 0.01$ 。
图 5 树鼩肝组织 P-gp 的表达
Note. A, Immunohistochemical staining of P-gp (IHC staining). B, C, CT group compared with G, D, D+G group, ** $P < 0.01$. D+G group compared with G, D group, ## $P < 0.01$.

Figure 5 Expression of P-gp in liver tissue

3 讨论

本实验探究 D-半乳糖和 L-谷氨酸对树鼩肝的损伤情况。有研究表明长期大剂量给予 D-半乳糖、谷氨酸均能够对机体产生损伤^[21-22]。体重与存活率能反映机体的综合代谢,进而反应药物对机体的

治疗和损伤作用。本实验发现, D+G 组树鼩体重减轻,存活率下降,提示 L-谷氨酸与 D-半乳糖联合给药,对树鼩有明显的损伤作用。肝是机体的主要代谢器官,也是化学物质最重要的靶器官,肝损伤是一种多因素疾病。肝损伤的主要靶细胞为肝细胞、胆管上皮细胞和血管内皮细胞,其病理特点复杂多

变。肝活检是临床上判断肝损伤严重程度的重要指标,协助分析病因和判断预后^[23]。D-半乳糖能够导致小鼠肝组织细胞排列不整齐,肝细胞坏死,出现明显病变^[24-27]。谷氨酸钠导致小鼠肝细胞细胞质肿胀,细胞核空泡化,门静脉区域充血,胆管扩张和炎性细胞浸润^[28-30]。本实验显示 L-谷氨酸对树鼩肝细胞损伤与谷氨酸钠类似。此外,D-半乳糖联合 L-谷氨酸给药,肝组织病理损伤更为严重,表现为肝细胞脂肪变性,细胞核空泡化,细胞索状消失,肝血窦明显增宽,中央静脉与门静脉扩张明显,有大量的炎症细胞浸润。提示联合给药导致树鼩肝组织较强炎症反应。

Toll 样受体的胞内段与 IL-1 受体同源,其激活能激发早期抗感染的炎性细胞因子生成,进而启动机体炎症防御机制。TLRS 及其信号途径在炎症反应中发挥重要作用。核转录因子 NF- κ B 是具有多种转录调节作用的核转录因子,通过参与炎性细胞因子的表达而参与多种疾病过程。TLRS 的激活引起下游分子活化,导致 NF- κ B 的活化及启动子结合蛋白磷酸化,诱导 NF- κ B 信号通路的促炎性因子反应,激活炎性因子产生生物学效应。张昭^[31]发现急性出血坏死性胰腺炎(AHNP)肝中 TLRs 与 NF- κ B 具有正相关性,TLRs 表达上调,进一步激活 NF- κ B,炎性介质表达增强,肝损伤加重。TLR2 是 TLRs 家族中研究最早分布最广泛的成员,受到内外源性配体刺激后,通过骨髓分化因子 88 依赖性途径活化 NF- κ B。NF- κ B 进入细胞核中作为转录因子诱导促炎因子和炎性因子表达^[32]。四氯化碳诱导大鼠肝损伤中,TLR2 与 NF- κ B 表达显著升高^[33]。在 AHNP 肝损伤模型中大鼠,TLR2mRNA 和 TLR2 的表达均显著升高^[34-36]。糖尿小鼠病伴有肝损伤时 NF- κ B 的表达显著上升^[37]。与以上报道相似,本实验显示 D-半乳糖、L-谷氨酸及二者联合给药均使 TLR2、NF- κ B 的表达升高。推测 D-半乳糖、L-谷氨酸通过刺激 TLR2/NF- κ B 信号通路,促发炎症反应,引起肝组织病理改变。

糖蛋白也称为多耐药基因 1,是 ABC 结合转运蛋白超家族成员,依赖 ATP 供能,介导肝细胞外排药物^[38-39]。主要介导疏水性阳离子外排降低肝细胞内药物浓度,产生耐药现象。炎症反应等病理条件下药物转运体的活性和表达改变,进而影响疗效或产生毒性。临床病理条件下,肝药物转运体表达的改变反映病情进程^[40]。P-糖蛋白在慢性肝损伤

中发挥一定作用^[41]。周利婷等^[19]在异烟肼致小鼠肝损伤中观察到 P-糖蛋白升高。李春桃^[20]在小鼠肝癌模型中发现,肝缺血再灌注损伤时,P-糖蛋白显著升高。本实验中 L-谷氨酸、D-半乳糖单独或联合给药,均引起树鼩肝 P-糖蛋白的高表达,当二者联合给药时 P-糖蛋白的表达最高。提示炎症反应严重性与 P-糖蛋白增加正相关。

综上所述,D-半乳糖、L-谷氨酸单独或联合作用均可引起树鼩肝组织损伤,其中联合给药损伤较严重。其机制可能涉及 TLR2/NF- κ B 通路激活而诱发炎症反应;同时树鼩肝组织 P-糖蛋白代偿性增加,以缓解毒性。

参 考 文 献 (References)

- [1] 张广杰. micro RNA 与常见肝脏疾病的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(20): 2371-237.
Zhang GJ. Research progress of MicroRNA and common liver diseases [J]. Int J Lab Med, 2011, 32(20): 2371-237.
- [2] Moghe A, Joshi-Barve S, Ghare S, et al. Histone modifications and alcohol-induced liver disease: Are altered nutrients the missing link? [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(20): 2465-2472.
- [3] 王玲, 孙妮戈, 姜玲, 等. 酒精性肝病动物模型的研究进展[J]. 安徽医药, 2010, 14(7): 745-748.
Wang L, Sun WG, Jiang L, et al. Advances in animal model of alcoholic liver disease [J]. Anhui Med Pharm J, 2010, 14(7): 745-748.
- [4] 莫之淮. 川芎、当归超临界 CO₂ 萃取物改善衰老小鼠肝肾损伤研究[D]. 广州中医药大学, 2016.
Mo ZZ. Ameliorative effect of CO₂ supercritical fluid extract of ligusticum chuanxiong and angelicae sinensis against D-galactose induced injury in the mouse liver and kidney [D]. Guangzhou University of Chinese Medicine, 2016.
- [5] Keppler D, Lesch R, Reutter W, et al. Experimental hepatitis induced by d-galactosamine [J]. Exp Mol Pathol, 1968, 9(2): 279-290.
- [6] Gao J, Yu Z, Jing S. Protective effect of Anwulignan against D-galactose-induced hepatic injury through activating p38 MAPK-Nrf2-HO-1 pathway in mice [J]. Clin Interv Aging, 2018, 13: 1859-1869.
- [7] 许烈强. 虎杖苷对 D-半乳糖和酒精致肝损伤的保护作用及机制研究[D]. 广州中医药大学, 2017.
XU LQ. Protective effect and potential mechanisms of polydatin against experimental liver injury [D]. Guangzhou University of Chinese Medicine, 2017.
- [8] Zhang X, Wu JZ, Lin ZX. Ameliorative effect of supercritical fluid extract of Chrysanthemum indicum Linné against D-galactose induced brain and liver injury in senescent mice via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 234: 44-56.

- [9] Peng X, Kong B, Yu H, et al. Protective effect of whey protein hydrolysates against oxidative stress in dgalactose-induced ageing rats [J]. *Int Dairy J*, 2014, 34(1): 80–85.
- [10] Zhang ZF, Fan SH, Zheng YL, et al. Purple sweet potato color attenuates oxidative stress and inflammatory response induced by D-galactose in mouse liver [J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(2): 496–501.
- [11] Kamel AS, Abdelkader NF, Abd El-Rahman SS, et al. Stimulation of ACE2/ANG (1-7)/Mas axis by diminazene ameliorates Alzheimer's disease in the D-galactose-ovariectomized rat model: role of PI3K/Akt pathway [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(10): 8188–8202.
- [12] Kim DH, Kim DW, Jung BH, et al. Ginsenoside Rb2 suppresses the glutamate-mediated oxidative stress and neuronal cell death in HT22 cells [J]. *J Ginseng Res*, 2019, 43(2): 326–334.
- [13] Medzhitov R, Preston-Hurlburt, Janeway CA Jr, et al. A human homologue of the drosophila toll protein signals activation of adaptive immunity [J]. *Nature*, 1997, 388(6640): 394–397.
- [14] Szatmary Z. Molecular biology of toll-like receptors [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2012, 31(4): 357–366.
- [15] Toubiana J, Rossi AL, Belaidouni N, et al. Src-family-tyrosine kinase Lyn is critical for TLR2-mediated NF- κ B activation through the PI 3-kinase signaling pathway [J]. *Innate Immun*, 2015, 21(7): 685–697.
- [16] Tan Y, Tseng PO, Wang D, et al. Stiffening-induced high pulsatility flow activates endothelial inflammation via a TLR2/NF- κ B pathway [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102195.
- [17] Aoki K, Nakajima M, Hoshi Y, et al. Effect of aminoguanidine on lipopolysaccharide-induced changes in rat liver transporters and transcription factors [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(3): 412–420.
- [18] 刘晴. 枸杞多糖对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化的保护作用及机制研究 [D]. 南京农业大学, 2016.
Liu Q. The protective effects of Lycium barbarum polysaccharides against CCl₄-induced liver fibrosis in rats and mechanism [D]. Nanjing Agricultural University, 2016.
- [19] 周利婷, 周燕, 张国强, 等. 异烟肼对小鼠肝细胞膜转运体 Mrp2, Bsep, P-gp 和 Ntcp 表达的影响 [J]. *中国药理学杂志*, 2014, 49(4): 298–302.
Zhou LT, Zhou Y, Zhang GQ, et al. Regulation effect of isoniazid on the expression of hepatobiliary membrane transporters Mrp2, Bsep, P-gp and Ntcp in mouse [J]. *Chin Pharm J*, 2014, 49(4): 298–302.
- [20] 李春桃. 缺血再灌注损伤对小鼠肝癌模型多药耐药表型的影响 [D]. 西南医科大学, 2017.
Li CT. Influence of ischemia-reperfusion injury on multidrug resistance related genes in hepatocarcinoma using a mouse liver cancer model [D]. Southwest Medical University, 2017.
- [21] 赵凡凡, 周玉枝, 高丽, 等. D-半乳糖致衰老大鼠模型的研究进展 [J]. *药理学学报*, 2017, 52(03): 347–354.
Zhao FF, Zhou YZ, Gao L, et al. Advances in the study of the rat model of aging induced by D-galactose [J]. *Acta Pharm Sin*, 2017, 52(03): 347–354.
- [22] 李娜. 中药抗谷氨酸神经毒性的机制研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(14): 3549–3551.
Li N. Research progress on mechanism of anti-glutamate neurotoxicity of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Geront*, 2013, 33(14): 3549–3551.
- [23] 耿文静, 刘晖, 丁惠国. 药物性肝损伤的潜在机制、病理特点及生物标志物 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(4): 925–929.
Geng WJ, Liu H, Ding GH. Recent advances in drug-induced liver injury: Potential mechanisms, pathological features, and biomarkers [J]. *J Clin Hepatol*, 2019, 35(4): 925–929.
- [24] Yu Y, Bai F, Liu Y, et al. Fibroblast growth factor (FGF21) protects mouse liver against D-galactose-induced oxidative stress and apoptosis via activating Nrf2 and PI3K/Akt pathways [J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 403(1–2): 287–299.
- [25] Zhang ZF, Lu J, Zheng YL, et al. Purple sweet potato color protects mouse liver against D-galactose-induced apoptosis via inhibiting caspase-3 activation and enhancing PI3K/Akt pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(8–9): 2500–2507.
- [26] 赵凡凡, 李肖, 高丽, 等. 甘草水提取物干预 D-半乳糖致衰老大鼠的肝脏代谢组学研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(17): 3545–3553.
Zhao FF, Li X, Gao L, et al. Liver metabolomics study of effects of glycyrrhizae radix et Rhizoma extracts on D-galactose-induced rats [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2017, 48(17): 3545–3553.
- [27] Wang PP, Sun HX, Liu CJ, et al. Racemic oleracein E increases the survival rate and attenuates memory impairment in D-galactose/NaNO₂-induced senescent mice [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(5): 460–467.
- [28] Alarcon-Aguilar FJ, Zamilpa A, Perez-Garcia MD, et al. Effect of hibiscus sabdariffa on obesity in MSG mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 114(1): 66–71.
- [29] Elbassuoni EA, Ragy MM, Ahmed SM. Evidence of the protective effect of l-arginine and vitamin D against monosodium glutamate-induced liver and kidney dysfunction in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 799–808.
- [30] Ortiz GG, Bitzer-Quintero OK, Zárate C, et al. Monosodium glutamate-induced damage in liver and kidney: a morphological and biochemical approach [J]. *Biomed Pharmacother*, 2006, 60(2): 86–91.
- [31] 张昭. TLR 信号通路参与 AHPN 时肝损伤机制及生长抑素调控作用 [D]. 华中科技大学, 2008.
Zhang Z. Effect of Somatostatin on TLR pathway during liver injuries in acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis in rats [D]. Huazhong University Of Science And Technology, 2008.
- [32] 简玲, 曹玲, 陈莲. 肺结核患者血清中 TLRs 信号通路表达水平与患者治疗效果及病情预后的关系 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2018, 25(1): 102–104, 108.
Jian L, Cao L, Chen L. The relationship between the expression level of TLRs signaling pathway in patients with pulmonary

- tuberculosis and the effect of treatment and prognosis [J]. Lab Immun Clin Med, 2018, 25(1): 102-104, 108.
- [33] Gan F, Liu Q, Liu Y, et al. Lycium barbarum polysaccharides improve CCl₄-induced liver fibrosis, inflammatory response and TLRs/NF- κ B signaling pathway expression in wistar rats [J]. Life Sci, 2018, 28(192): 205-212.
- [34] 席锐, 王丽娟, 李小涛, 等. 急性出血坏死性胰腺炎肝损伤中 TLR2, 4mRNA 和蛋白的表达 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(20): 3846-3849.
- Xi R, Wang LJ, Li XT, et al. Study on the Expressions of TLR2, 4 mRNA and protein in Liver injury of acute hemorrhagic necrotic pancreatitis [J]. Prog Modern Biomed, 2017, 17(20): 3846-3849.
- [35] 刘娟, 谭锋, 欧阳明. 氯喹对 AHNP 肝损伤 Toll 样受体 2/4 表达的影响及作用机制研究 [J]. 中南药学, 2014, 12(4): 350-353.
- Liu J, Tan F, OUYang M. Effect of chloroquine on the expression of liver injury AHNP Toll-like receptor 2/4 and its mechanism [J]. Cent South Pharm, 2014, 12(4): 350-353.
- [36] 黄鹏, 吴河水, 张磊, 等. 急性出血坏死性胰腺炎肝损伤中 TLR2/4mRNA 的表达及氯喹的干预效应 [J]. 中国普通外科杂志, 2006, 15(6): 438-441.
- Huang P, Wu HS, Zhang L, et al. Toll-like receptor 2 and 4 gene expression in acute injury liver tissue of acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis rats and the efficacy of intervention with chloroquine [J]. Chin J Gen Surg, 2006, 15(6): 438-441.
- [37] 陆海英, 李志杰, 舒适, 等. 六味地黄丸基于 SIRT6/NF- κ B 信号通路对糖尿病伴肝损伤的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(12): 28-34.
- Lu HY, Li ZJ, Shu S, et al. Protective effect of liuwei dihuangwan on diabetes mellitus with liver injury based on SIRT6/NF- κ B signaling pathway [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 2019, 25(12): 28-34.
- [38] Fromm MF, Kim RB. Drug Transporters [M]. Erlangen: Springer verlag berlin heidelberg, 2011.
- [39] Liu H, Sahi J. Role of hepatic drug transporters in drug development [J]. Clin Pharmacol, 2016, 56(7): S11-S22.
- [40] 邹玉, 岑娟, 韩利文, 等. 药物转运体在药源性肝损伤中的作用 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(36): 7196-7200, 7167.
- Zou Y, Cen J, Han LW, et al. Effect on drug transporters in drug-induced liver [J]. Prog Modern Biomed, 2017, 17(36): 7196-7200, 7167.
- [41] 金实, 姚丹, 刘灿, 等. 慢性肝损伤对大鼠脑内 P-GP 及 MRP2 功能和表达的影响 [J]. 中国药科大学学报, 2012, 43(1): 64-69.
- Jin S, Yao D, Liu C, et al. Effect of chronic liver failure on the function and expression of P-GP and MRP2 in rat brain [J]. J Chin Pharm Univ, 2012, 43(1): 64-69.

[收稿日期] 2019-07-10