

竹节香附素 A 对肝缺血再灌注大鼠的保护作用机制

李洪波¹, 黄锐², 代将³, 钟振东⁴

(1. 四川省广汉市人民医院外二科, 广汉 618300; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院肝胆外科, 成都 610007; 3. 四川省医学科学院·四川省人民医院急救中心, 成都 610007; 4. 四川省医学科学院·四川省人民医院动物研究中心, 成都 610007)

[摘要] 目的 探讨竹节香附素 A (raddeanin A, RA) 对大鼠肝缺血再灌注损伤的保护作用机制。方法 将 30 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组和 RA 组, 每组 10 只。RA 组大鼠于造模前 24 h 和 1 h 分别按体质量尾静脉注射 RA (10 mg/kg), 假手术组与模型组分别注射等体积的 0.9%NaCl 溶液 (生理盐水)。大鼠麻醉后夹闭入肝血管 60 min 致肝脏 70 % 缺血, 恢复血流 6 h 后检测血清中丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH) 的含量, ELISA 法检测肝脏中超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的含量, HE 与 TUNEL 染色观察肝脏病理损伤与肝细胞凋亡情况, 蛋白质印迹法检测肝脏中 B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白 (Bax)、B 淋巴细胞瘤-2 蛋白 (Bcl-2) 和半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 的表达水平。结果 与模型组比较, RA 组血清中 ALT、AST 和 LDH 含量减少 ($P < 0.05$), 肝组织中 MDA、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量减少 ($P < 0.05$), SOD 含量增加 ($P < 0.05$); RA 组肝脏组织结构完好, 凋亡细胞数量减少, 凋亡率降低 ($P < 0.01$), Bax 和 Caspase-3 水平下降, Bcl-2 水平升高 ($P < 0.05$)。结论 缺血再灌注前注射 RA 能提升缺血再灌注后大鼠肝功能, 减少氧化与炎症因子的释放, 通过下调 Bax 和 Caspase-3 蛋白表达减少肝细胞凋亡, 从而发挥保护肝脏的作用。

[关键词] 竹节香附素 A; 肝缺血再灌注; 细胞凋亡; 氧化应激; 体内活性; 中药有效成分; 大鼠
[中图分类号] Q95-33; R965.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)01-0055-06

Mechanism of Protective Effect of Raddeanin A on Hepatic Ischemia-reperfusion in Rats

LI Hongbo¹, HUANG Rui², DAI Jiang³, ZHONG Zhendong⁴

(1. Department of Second Surgery, Guanghan People's Hospital, Guanghan 618300, China; 2. Department of Hepatobiliary & Pancreatic Center, Sichuan Academy of Medical Science and Provincial People's Hospital, Chengdu 610007, China; 3. Department of First-aid Center, Sichuan Academy of Medical Science and Provincial People's Hospital, Chengdu 610007, China; 4. Center of Animal Research, Sichuan Academy of Medical Science and Provincial People's Hospital, Chengdu 610007, China)

Correspondence to: DAI Jiang, E-mail: daijiang0115@aliyun.com

[Abstract] **Objective** To explore the protective mechanism of raddeanin A (RA) on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. **Methods** Thirty rats were randomly assigned into three groups including sham, model and RA groups ($n=10$). The rats in the RA group were injected with RA (10 mg/kg) in the tail vein 24 h and 1 h before model construction. The rats in the sham and model groups were injected with normal saline of equal volume. After the rats were anesthetized, the blood vessels entering the liver were blocked for 60 min,

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81302161); 四川省卫生厅资助项目(17PJ587)

[作者简介] 李洪波(1973—), 男, 主治医师, 研究方向: 肝胆科。E-mail: lhbbiology@163.com

[通信作者] 代将(1977—), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事药物联合血液灌流的综合治疗。E-mail: daijiang0115@aliyun.com

causing 70% of the liver to be ischemia. The contents of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and lactate dehydrogenase (LDH) in serum were detected 6 h after liver blood flow was restored, the superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels in liver were detected by ELISA. Liver specimens were stained with hematoxylin-eosin (HE) and TUNEL for observation of pathologic and apoptotic changes. Bcl2-associated X protein (Bax), Bcl-2 and Caspase-3 protein levels in liver were detected by Western blotting.

Results The levels of ALT, AST and LDH in the RA groups were lower than those in the model group ($P<0.01$). The levels of MDA, IL-1 β , IL-6, TNF- α , Bax and Caspase-3 in the RA groups were lower than those in the model group ($P<0.05$), the levels of SOD and Bcl-2 were higher ($P<0.05$). The structure of hepatic lobules was complete in the RA group. The apoptotic cells and the apoptosis rate in the RA group were lower than those in the model group ($P<0.01$). **Conclusion** Preoperative injection of RA can protect the liver by improving the liver function of rats after ischemia-reperfusion, reducing the release of oxidative and inflammatory factors, and reducing the apoptosis of hepatocytes via down-regulating the expressions of Bax and Caspase-3 proteins.

[Key words] Raddeanin A; Hepatic ischemia-reperfusion; Apoptosis; Oxidative stress; *in vivo* activity; Active ingredients of Chinese medicine; Rats

近年来,肝病发病率逐年上升。据不完全统计,世界上多达 25% 的人口有肝病,主要诱发类型包括病毒性感染、酗酒和非酒精性脂肪肝^[1]。肝病后期的主要治疗手段是肝脏手术或肝移植手术,而肝缺血再灌注 (hepatic ischemia reperfusion, HIR) 则是手术必要环节。目前,肝缺血再灌注的主要损伤为缺氧造成的器官损伤、炎症反应、细胞过度凋亡和基因突变等,因此,如何预防与治疗此类损伤已经是全球性课题^[2]。

竹节香附素 A (raddeanin A, RA) 是从海葵根中提取的夹竹桃型三萜皂苷^[3]。研究发现 RA 对人类肝癌细胞具有抗增殖^[3]、促凋亡、抑制迁移与侵袭的效果。另外,RA 已被证实能通过抑制核因子- κ B 和 Wnt/ β -catenin 信号通路,引起结肠癌细胞凋亡^[4],但至今未见 RA 在预防肝缺血再灌注损伤中的相关报道。此外,RA 参与 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导乳腺癌细胞凋亡^[4],提示 RA 能在细胞凋亡通路中起调节作用,可能是预防肝缺血再灌注后肝细胞过度凋亡的一个潜在化合物。因此,本实验从氧化应激与细胞凋亡两个方面探讨 RA 对肝缺血再灌注损伤大鼠的保护作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量为 260 ± 20 g,

由成都达硕实验动物有限公司提供[SCXK(川)2015-030],饲养于四川大学华西医院[SYXK(川)2018-119]。本研究经四川大学华西医院实验动物伦理委员会审批通过(编号 2020280A)。

1.2 药物、试剂和仪器

RA 纯度 $\geq 98\%$,购自上海源叶生物科技有限公司(批号:20190203)。超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所,白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、TUNEL 测定试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司,兔抗 B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白(Bax)、B 淋巴细胞瘤-2 蛋白(Bcl-2)、半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)、 β -肌动蛋白(β -actin)一抗和羊抗兔二抗均购自艾博抗(上海)贸易有限公司。全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司)、酶标仪(美国 Thermo 公司)、切片机(德国 Leica 公司)、光学显微镜(日本 Olympus 公司)、蛋白质电泳仪(美国 Bio-Rad 公司)、全功能成像仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 主要实验方法

1.3.1 实验分组及大鼠肝缺血再灌注模型构建^[5]

将 30 只大鼠按随机数字表法随机分成 3 组,即模型组、假手术组与 RA 组,每组 10 只。RA 组手术前 24 h 与 1 h 分别经尾静脉注射 RA (10 mg/kg),模型组与假手术组同法注射等体积的 0.9% NaCl 溶

液（生理盐水）。最后一次预处理完毕后 1 h，各组大鼠腹腔注射戊巴比妥（40 mg/kg），于上腹正中做长约 4 cm 切口打开腹腔，暴露肝脏且游离肝周韧带。模型组与 RA 组用无损伤血管夹夹闭肝左叶和肝中叶入肝血管阻断血流（70% 肝脏缺血）60 min 后，松开血管夹恢复血流。假手术组仅游离肝门而不阻断血流。再灌注 6h 后，从下腔静脉采血用于丙氨酸转氨酶（ALT）、天冬氨酸转氨酶（AST）、乳酸脱氢酶（LDH）的检测；采集左叶肝脏在 -80℃ 下储存，用于炎症因子、氧化应激因子和凋亡相关蛋白的检测；右叶肝脏储存在 4% 的多聚甲醛溶液中固定，用于 HE 染色与 TUNEL 染色病理学观察。

1.3.2 血清中 ALT、AST、LDH 含量的检测

收集下腔静脉血 1 mL，以 3 000 r/min 离心 10 min，取上层血清，按照试剂盒说明书进行操作，使用全自动血液生化仪测定各组血清中 ALT、AST 和 LDH 的水平。

1.3.3 肝脏中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 SOD、MDA 含量的检测

将左叶肝脏制备 10% 的组织匀浆，3 000 r/min 离心 10 min，取上清液按照试剂盒说明书进行操作，使用全自动酶标仪测定肝脏中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 SOD、MDA 的含量。

1.3.4 肝脏形态学分析

所有组织病理学检查均采用“双盲法”。将固定好的各组肝脏标本用石蜡包埋后分别使用 HE 染色，在 400 倍下进行组织学分析，评价肝脏组织被膜、肝索、中央静脉和核膜等的损伤情况。

1.3.5 肝细胞凋亡率的检测

各组肝脏标本用石蜡包埋、切片后，按照 TUNEL 染色试剂盒进行染色操作，使用荧光显微镜观察细胞凋亡情况，每张切片随机选取 5 个 400 倍视野，按每 100 个细胞中含凋亡细胞数计算细

胞凋亡率。

1.3.6 蛋白质印迹法检测

将左叶肝脏取出，提取总蛋白并测定蛋白浓度。蛋白样品（20 μ g）使用 10 % SDS-PAGE 进行电泳，然后转移到 PVDF 膜上。在室温下用 5% 脱脂奶粉将膜封闭 60 min，然后加入下列一抗在 4℃ 条件下过夜孵育：兔抗大鼠 Bax（1：1 000）、兔抗大鼠 Bcl-2（1：1 000）、兔抗大鼠 Caspase-3（1：1 000）、兔抗大鼠 β -actin（1：1 000）。使用 TBST 将膜清洗干净后，加入羊抗兔 IgG（1：10 000），室温孵育 2 h，最后使用 ECL 试剂盒曝光显影，使用凝胶成像系统进行分析。

1.4 统计分析

使用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析，数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多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。

2 结果

2.1 RA 预处理对大鼠肝脏功能的保护作用

再灌注 6 h 后，与假手术组相比，模型组与 RA 组血清中 ALT、AST 与 LDH 含量明显增高（ $P < 0.01$ ）。与模型组相比，RA 组血清中 ALT、AST 与 LDH 的含量明显减少（ $P < 0.01$ ）（表 1）。

2.2 RA 预处理对大鼠炎症因子的影响

再灌注 6 h 后，与假手术组相比，模型组大鼠肝脏中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量明显增多（ $P < 0.01$ ）；与模型组相比，RA 组肝脏中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的含量明显减少（ $P < 0.05$ ）（表 2）。

2.3 RA 预处理对大鼠肝脏氧化应激因子的影响

再灌注 6 h 后，与假手术组相比，模型组大鼠肝脏中 SOD 含量明显降低，MDA 含量明显增多（均 $P < 0.05$ ）；与模型组相比，RA 组肝脏中 SOD 含量明显增多，MDA 明显减少（均 $P < 0.05$ ）（表 3）。

表 1 3 组大鼠血清中 ALT、AST、LDH 含量

Table 1 Serum ALT, AST and LDH contents in the three groups of rats

组 别	$(\bar{x} \pm s, n=10)$		
	ALT/(U $\cdot$ L $^{-1}$)	AST/(U $\cdot$ L $^{-1}$)	LDH/(U $\cdot$ L $^{-1}$)
假手术组	45.83 $\pm$ 5.95	110.67 $\pm$ 5.68	791.53 $\pm$ 21.33
模型组	199.50 $\pm$ 15.24**	203.67 $\pm$ 11.02**	1717.57 $\pm$ 75.74**
竹节香附素 A 组	129.87 $\pm$ 14.88##	166.67 $\pm$ 6.72##	1347.23 $\pm$ 34.36##

注：与假手术组相比，** $P < 0.01$ ；与模型组相比，## $P < 0.01$ 。

表 2 3组大鼠肝脏中 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 含量
Table 2 IL-1β, IL-6 and TNF-α contents in the liver of the three groups of rats

($\bar{x} \pm s, n=10$)			
组 别	IL-1β/(ng · L ⁻¹)	IL-6/(ng · L ⁻¹)	TNF-α/(ng · L ⁻¹)
假手术组	4.55 ± 0.21	3.58 ± 0.11	35.96 ± 1.47
模型组	5.28 ± 0.14**	3.99 ± 0.13**	40.36 ± 0.66**
竹节香附素 A 组	4.82 ± 0.16##	3.70 ± 0.10##	37.99 ± 0.30##

注：与假手术组相比，** $P < 0.01$ ；与模型组相比，## $P < 0.01$ 。

表 3 3组大鼠肝脏中 SOD 和 MDA 含量
Table 3 SOD and MDA contents in the liver of the three groups of rats

($\bar{x} \pm s, n=10$)		
组 别	SOD/(ng · L ⁻¹)	MDA/(ng · L ⁻¹)
假手术组	22.97 ± 1.08	0.73 ± 0.02
模型组	20.47 ± 0.14*	0.84 ± 0.02**
竹节香附素 A 组	21.13 ± 0.32#	0.79 ± 0.02#

注：与假手术组相比，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组相比，# $P < 0.05$ 。

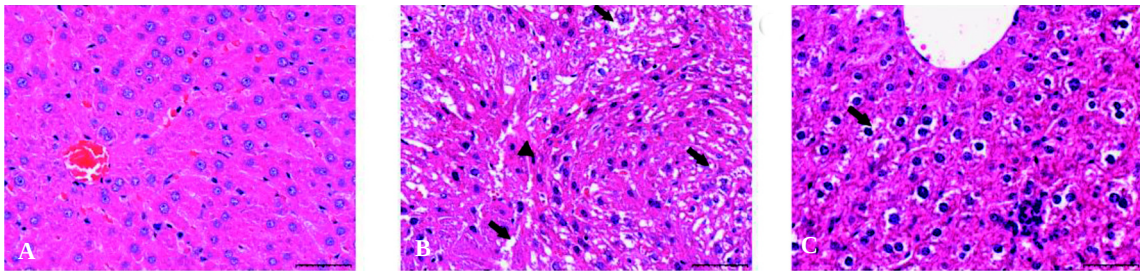
2.4 RA 预处理对大鼠肝脏形态学的影响

HE 染色后光学显微镜下观察发现：假手术组肝脏组织均为正常形态结构，未见明显的纤维组织增生及炎性渗出（图 1A）。模型组肝脏被膜完整，肝索排列紊乱；大量肝细胞空泡变性或坏死，可见细胞明显肿胀变形，细胞质内含大小

不等的空泡，细胞核多被挤于一侧，部分细胞核固缩或溶解，细胞结构模糊；门管区结构完整，未见明显病理改变（图 1B）。RA 组肝脏被膜完整，肝索排列较为整齐，肝细胞肿胀、空泡变性，偶见少量肝细胞呈点状坏死，并伴少量中性粒细胞或淋巴细胞浸润；门管区结构完整，未见明显病理改变（图 1C）。

2.5 RA 预处理对大鼠肝脏细胞凋亡的影响

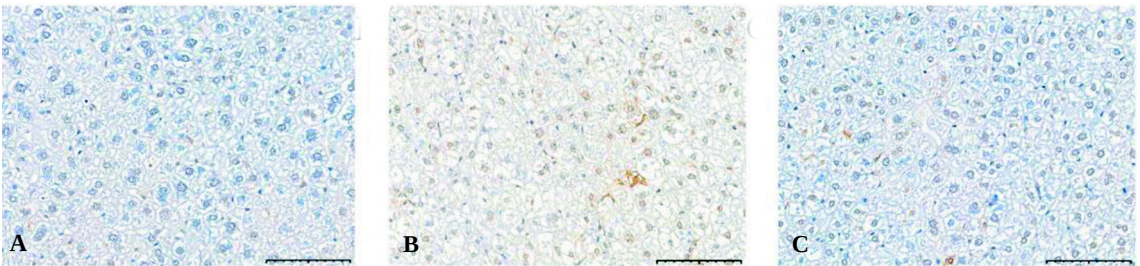
TUNEL 法结果显示，假手术组细胞核多数呈蓝色，细胞结构完整，凋亡细胞较少（图 2A）；模型组大部分细胞核呈黄色，说明细胞结构被破坏，凋亡细胞大量生成（图 2B）；RA 组细胞核大部分呈蓝色，部分细胞核呈黄色，说明出现部分凋亡细胞（图 2C）。与假手术组相比，模型组和 RA 组肝脏细胞凋亡率均明显升高



注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为竹节香附素 A 组；↓ 示不规则空泡，▲ 示肝索排列紊乱；标尺 = 50 μm。

图 1 3组大鼠肝脏病理形态学观察 (HE 染色)

Figure 1 Observation on pathological morphology of the liver in the three groups of rats (HE staining)



注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为竹节香附素 A 组；标尺 = 100 μm。

图 2 3组大鼠肝细胞凋亡观察 (TUNEL 染色)

Figure 2 Observation on apoptosis of hepatocytes of the three groups of rats (TUNEL staining)

($P < 0.01$); 与模型组相比, RA 组肝脏细胞凋亡率明显降低 ($P < 0.01$) (表 4)。

2.6 RA 预处理对大鼠肝脏凋亡蛋白的影响

与假手术组相比, 模型组与 RA 组中 Bax 与 Caspase-3 的蛋白表达水平明显升高, 而 Bcl-2 的蛋白表达水平明显降低 (均 $P < 0.05$); 与模型组相比, RA 组中 Bax 与 Caspase-3 的表达水平明显降低, Bcl-2 的表达水平明显升高 ($P < 0.05$) (表 5, 图 3)。

表 4 3 组大鼠肝细胞凋亡率

Table 4 Apoptosis rates of hepatocytes in the three groups of rats

组别		凋亡率/%
假手术组		0.02 ± 0.04
模型组		$16.15 \pm 0.33^{**}$
竹节香附素 A 组		$6.62 \pm 0.99^{##}$

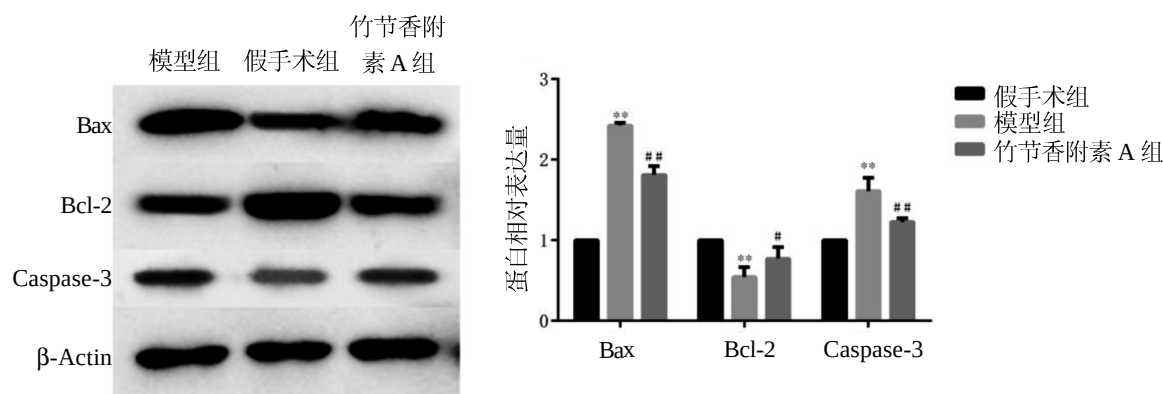
注: 与假手术组相比, $^{**}P < 0.01$; 与模型组相比, $^{##}P < 0.01$ 。

表 5 3 组大鼠肝脏中 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 表达

Table 5 Expressions of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in the liver of the three groups of rats

组别				($\bar{x} \pm s, n=10$)
Bax		Bcl-2		Caspase-3
假手术组		1.00 ± 0.00		1.00 ± 0.00
模型组		$2.43 \pm 0.33^{**}$		$1.61 \pm 0.17^{**}$
竹节香附素 A 组		$1.81 \pm 0.11^{##}$		$1.23 \pm 0.05^{##}$

注: 与假手术组相比, $^{**}P < 0.01$; 与模型组相比, $^{#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$ 。



注: 与假手术组相比, $^{**}P < 0.01$; 与模型组相比, $^{#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$ 。

图 3 3 组大鼠肝脏中 Bax、Bcl-2、Caspase-3 表达

Figure 3 Expressions of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in the liver of the three groups of rats

3 讨论

肝缺血再灌注损伤最主要的特征是肝损伤, 而肝功能检测是目前肝损伤检测最快捷方便的一个方法, 其最常见的检测指标为血清中的 ALT、AST 和 LDH。肝损伤的主要表现是血清中 ALT 和 AST 的水平异常升高^[6-7]。本研究结果显示, RA 能有效降低肝缺血再灌注后肝细胞中 ALT 与 AST 的水平, 同时能降低血清中 LDH 的水平 ($P < 0.01$), 说明模型制备成功, 而且 RA 能预防肝缺血再灌注后肝细胞的损伤。

氧化应激平衡在缺血过程中起关键作用, 失衡会导致肝细胞损伤^[8], 主要原因是缺血导致组织缺氧, 形成大量氧自由基, 发生脂质过氧化作用^[9-10]。目前检测氧化应激平衡的常用指标为 SOD 与 MDA。本研究结果表明, 肝缺血再灌注前使用 RA 预防给药, 能明显降低肝组织中 MDA 的含量, 提高 SOD 的水平 ($P < 0.05$), 说明 RA 能预防肝缺血再灌注带来的氧化应激失衡。有研究发现, 肝脏中的巨噬细胞会在再灌注后产生大量的炎症因子与趋化因子, 调节与激活一系列的炎症机制, 造成炎症反应, 损伤肝细胞^[11],

最终引起细胞死亡和组织坏死^[12]。同时,再灌注早期主要的损伤是由促炎因子与细胞因子造成,如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等^[13]。本实验发现,术前使用 RA 预防后,肝脏中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的含量显著降低 ($P < 0.05$),阻止了肝组织氧化应激失衡,同时减轻了炎症因子对肝脏的损伤。

病理学观察是评价器官病变的重要手段之一,能直观地反映器官组织的状态。对肝脏进行病理学形态观察也发现,HE 染色后,RA 组肝脏组织的细胞核肿胀程度与细胞质内空白均明显减少,细胞排列结构也恢复整齐,证明 RA 可以预防肝缺血再灌注后的损伤。细胞凋亡是一种细胞死亡方式。研究发现,肝脏再灌注会激活相关凋亡通路,诱导正常或受损的肝细胞死亡^[14]。本实验发现,RA 组中肝细胞的凋亡数量明显减少,细胞凋亡率也明显降低 ($P < 0.01$); RA 组凋亡通路中 Bax 和 Caspase-3 的蛋白表达水平显著降低, Bcl-2 的表达水平显著升高 ($P < 0.05$),结果表明,RA 在作用正常肝细胞时,体现的药理作用主要以抗炎抗氧化为主,通过减少肝脏组织中氧化应激与炎症因子的水平间接避免肝脏细胞受损,表现出细胞凋亡减少的状态。综合两部分结果,RA 的预防给药能减轻肝脏的病变,减少肝细胞的凋亡数量,其作用机制可能是降低 Bax 和 Caspase-3 的表达,以及增加 Bcl-2 的表达。

缺血再灌注是一种复杂的病理生理现象,是一个包括局部缺血损伤与再灌注损伤的动态过程^[15],涉及代谢紊乱、氧化应激、炎症反应和细胞凋亡等过程。所以,探讨缺血再灌注损伤的确切机制对减轻手术风险和改善患者预后具有重要意义。RA 作为一种中药有效提取成分,提取方法简单,成本低廉且获取方式多,不良反应少,是一种非常好的治疗药物。RA 在肿瘤细胞中通过促进细胞凋亡产生抗肿瘤的作用,对正常细胞具有保护与抗炎作用,不会对正常细胞造成损伤。本实验通过对大鼠术前注射 RA,研究发现其有预防肝缺血再灌注损伤的效果,表现为提升肝功能、降低氧化损伤、减少炎症因子的释放,以及减少肝细胞凋亡,其作用途径可能与 Bax/Bcl-2/Caspase-3 凋亡通路相关。

参考文献:

- [1] LIU H, DONG J, SONG S, et al. Spermidine ameliorates liver ischaemia-reperfusion injury through the regulation of autophagy by the AMPK-mTOR-ULK1 signalling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 519 (2):227-233. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.08.162.
- [2] NASTOS C, KALIMERIS K, PAPOUTSIDAKIS N, et al. Global consequences of liver ischemia/reperfusion injury [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014:906965. DOI: 10.1155/2014/906965.
- [3] GU G, QI H, JIANG T, et al. Investigation of the cytotoxicity, apoptosis and pharmacokinetics of Raddeanin A[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(3):1365-1369. DOI:10.3892/ol.2017.5588.
- [4] GUO S S, WANG Y, FAN Q X. Raddeanin A promotes apoptosis and ameliorates 5-fluorouracil resistance in cholangiocarcinoma cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(26):3380-3391. DOI:10.3748/wjg.v25.i26.3380.
- [5] ZHANG T, SHU H H, CHANG L, et al. Resolvin D1 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1):322-327. DOI:10.1016/j.intimp.2015.06.017.
- [6] DU Y, LI D, HAN C, et al. Exosomes from human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stromal cells (hiPSC MSCs) protect liver against hepatic ischemia/reperfusion injury via activating sphingosine kinase and sphingosine-1-phosphate signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(2):611-625. DOI:10.1159/000480533.
- [7] GAO L, CHEN X, PENG T, et al. Caveolin-1 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury through ameliorating peroxynitrite-mediated cell death[J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 95(defined):209-215. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.023.
- [8] LIU D, JIN X, ZHANG C, et al. Sevoflurane relieves hepatic ischemia-reperfusion injury by inhibiting the expression of Grp78[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(5):BSR20180549. DOI: 10.1042/BSR20180549.
- [9] TAK E, PARK G C, KIM S H, et al. Epigallocatechin-3-gallate protects against hepatic ischaemia-reperfusion injury by reducing oxidative stress and apoptotic cell death [J]. *J Int Med Res*, 2016, 44(6):1248-1262. DOI:10.1177/0300060516662735.

(下转第 65 页)