doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2025.01.003

❖基础医学研究❖

还原型谷胱甘肽对对乙酰氨基酚急性肝损伤保护作用的机制研究

陈莉[1],吴思霖[2],张成大[3],何君[4],王继生[5],庞军[6]
(1.西南医科大学附属医院肿瘤科,四川 泸州 646000;绵阳市第三人民医院·四川省精神卫生中心,2.病理科;3.消化科;4.肿瘤科;5.临床药学科,四川 绵阳 621000;6.西南医科大学附属中医医院肿瘤科,四川 泸州 646000)

【摘要】目的: 采用蛋白质组学初步探讨还原型谷胱甘肽(GSH)对对乙酰氨基酚(APAP)诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用及分子机制。**方法:** 随机将 120 只小鼠分为 3 组:空白对照组(Control 组)、对乙酰氨基酚模型组(APAP 组)、还原型谷胱甘肽组(GSH 组),每组各 40 只。造模后,GSH 组小鼠腹腔注射 GSH 0.40 g/kg,持续 3 d。收集各组肝组织,SWATH 联合液相色谱-串联质谱技术分析小鼠肝组织蛋白质表达谱,对 APAP 组与 Control 组、GSH 组与 APAP 组的差异蛋白进行 GO 功能注释、KEGG 通路富集分析及蛋白互作关系网络(PPI)构建,免疫组化验证关键蛋白。**结果:** APAP 组与 Control 组之间筛选出 310 个差异蛋白,GSH 组与 APAP 组之间筛选出 172 个差异蛋白;这些差异蛋白主要富集在氮代谢、脂肪酸代谢、有机酸代谢途径;APAP 组 *vs*. Control 组和 GSH 组 *vs*. APAP 组共同差异表达蛋白有 17 个,其中 Anxa5、Rgn、Tagln、Vim、Usp5 可能与细胞凋亡相关;与 Control 组相比,APAP 组 Anxa5、Rgn 蛋白表达水平升高($P<0.05$),与 APAP 组相比,GSH 组 Anxa5 蛋白表达水平降低($P<0.05$),Rgn 蛋白表达水平升高($P<0.05$);Tagln、Vim、Usp5 差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论:** GSH 可能通过抑制细胞凋亡对 APAP 诱导的小鼠急性肝损伤发挥保护作用,Anxa5、Rgn、Tagln、Vim、Usp5 是潜在作用靶点。

【关键词】 还原型谷胱甘肽;对乙酰氨基酚;蛋白质组学;急性肝损伤
【中图分类号】 R575 **【文献标志码】** A

Mechanism of protective effect of reduced glutathione on acute liver injury induced by acetaminophen

CHEN Li[1], WU Si-lin[2], ZAHNG Cheng-da[3], HE Jun[4], WANG Ji-sheng[5], PANG Jun[6]
(1. *Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou* 646000; 2. *Department of Pathology*; 3. *Department of Gastroenterology*; 4. *Department of Oncology*; 5. *Department of Clinical Pharmacy, the Third Hospital of Mianyang, Sichuan Mental Health Center, Mianyang* 621000; 6. *Department of Oncology, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou* 646000, *Sichuan, China*)

【Abstract】 Objective: To explore the molecular mechanisms of protective effects of glutathione (GSH) in mice with acetaminophen-induced acute liver injury. **Methods:** 120 mice were randomly divided into 3 groups: Control, APAP, GSH, with 40 in each group. After establishing the model, mice in the GSH groups were intraperitoneally injected with GSH (0.40 g/kg) for 3 days. Subsequently, liver tissue samples were collected. SWATH combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry was used to analyze the protein expression profile, and the differentially expressed proteins between APAP group and Control group, GSH group and APAP group were screened out. GO functional annotation and KEGG pathway enrichment analysis were performed for the above differential proteins. Protein interaction network (PPI) was constructed by String database and Cytoscape software, and the key proteins were verified by immunohistochemical staining. **Results:** A total of 310 differentially expressed proteins were screened out between APAP group and Control group. A total of 172 differentially expressed proteins were screened out between the GSH group and the APAP group. The enrichment analysis of the above differentially expressed proteins showed that the differential proteins were mainly enriched in the functions and pathways of nitrogen metabolism, fatty acid metabolism, and organic acid metabolism. Further analysis identified 17 differentially expressed proteins between APAP group *vs*. Control group and GSH group *vs*. APAP group. Anxa5, Rgn, Tagln, Vim and Usp5 may be related to apoptosis. Anxa5 and Rgn protein expression was higher in the APAP group than in the Control group ($P<0.05$). In contrast, Anxa5 protein expression decreased and Rgn protein expression increased in the GSH group compared to the APAP group ($P<0.05$),

基金项目: 四川省抗癌协会临床科研(齐鲁)项目(XH2022-101);四川省泸州市科技局项目(2022-SYF-86)
作者简介: 陈莉(1999-),女,硕士研究生。E-mail:chenclili@163.com
通讯作者: 庞军。E-mail:junp.tumor@163.com

there was no statistically significant difference in Tagln, Vim, and Usp5 ($P > 0.05$). **Conclusion**: GSH protects mice from APAP-induced liver injury by inhibiting cell apoptosis. Anxa5, Rgn, Tagln, Vim, and Usp5 are potential targets.

【**Key words**】 Reduced glutathione; Acetaminophen; Proteomics; Acute liver injury

对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)是临床上常用的解热镇痛药之一,过量的APAP摄入是导致严重肝损伤最常见的病因之一[1-2]。APAP主要代谢产物N-乙酰对苯醌亚胺是导致肝损伤的主要化学成分,它与体内的还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)结合,形成无毒性的巯基及半胱氨酸化合物排出体外,但超量使用或者合并肝脏基础疾病、营养不良、有饮酒等情况时,发生APAP肝损伤的风险增加[3-4]。目前,N-乙酰半胱氨酸是美国食品药品监督管理局在2011年批准的唯一解毒剂,但该药的不良反应发生率高达67.6%[5-7]。因此,寻找更安全有效的治疗APAP所致急性肝损伤的药物是有意义的。GSH是临床治疗肝损伤的常用药物之一,被广泛用于治疗重金属及有机化合物中毒、肝炎等。体内GSH主要在肝脏合成和消耗,当肝细胞受损后,GSH合成减少,消耗增加,对氧自由基的防御能力降低,氧自由基通过脂质过氧化作用,细胞内钙离子流失,线粒体功能障碍导致肝细胞膜损伤,进而诱导肝细胞变性坏死[8]。外源性补充GSH可恢复GSH氧化酶活性,清除氧自由基,阻断其对肝细胞的损害,从而缓解肝损伤[9]。本研究采用SWATH联合液相色谱-串联质谱技术分析GSH对APAP所导致的急性损伤肝组织中蛋白表达改变的影响,结合生物信息学分析探讨GSH对APAP所导致急性肝损伤的保护作用及相关分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 *实验动物* 本实验选用健康SPF级昆明种雄性小鼠120只,体质量(27.00±2.00)g,6~8周龄,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[许可证号:SCXK(湘)2019-0004]。动物饲养于四川中医药高等专科学校实验动物中心,适应性喂养1周。本实验通过绵阳市第三人民医院医学伦理委员会审核[审批号:2021年审(1)号]。

1.1.2 *药物与制剂* 还原型谷胱甘肽(重庆药友制药有限责任公司);对乙酰氨基酚(上海瑞永生物科技);Bradford蛋白定量试剂盒(Bio-Rad, America);膜联蛋白A5抗体(Abcam);钙调素抗体、转凝蛋白抗体、波形蛋白抗体、泛素羧基末端水解酶抗体(博奥森)。

1.2 方法

1.2.1 *动物分组、造模及给药* 120只昆明种雄性小鼠随机分为3组:Control组、APAP组、和GSH组,每组各40只。除Control组外,各组小鼠灌胃APAP溶液0.36 g/kg构建小鼠急性肝损伤模型。造模后,GSH组小鼠腹腔注射GSH 0.40 g/kg,持续3 d。实验结束后,收集肝脏组织样本。

1.2.2 *蛋白样品制备* 肝脏组织用RIPA裂解后,离心取上清进行蛋白定量,用预冷丙酮沉淀蛋白,加入蛋白裂解液再溶解,每组各取200 μg蛋白溶液按试剂盒说明行蛋白酶解,酶解后各组取样品120 μg混匀为360 μg的多肽段混合物,用A的流动相溶解振荡、离心,注入上清液进样,按照梯度收集洗脱物,冷冻离心干燥后在-80 ℃下冷冻保存。

1.2.3 *质谱分析* 蛋白质分析通过微升级反相色谱Triple TOF 6600+进行。将有乙腈和甲醇的30 μL混合溶液,加入1~12号EP管,涡旋振荡、离心后,将上清分别对应转入13~24号EP管,继续重复以上涡旋振荡、离心、合并步骤,直到最后一轮只剩下37~48号管12个样品;4 ℃、12 000 r/min离心10 min,吸出上清上样;Loading Pump流速设置为10 μL/min,持续时间为15 min,分离的流速为0.3 μL/min,分离梯度根据组分差异稍作调整。质谱参数根据质谱条件设置对应。

1.2.4 *Swath方法建立和质谱数据采集* 24个酶解样品每个取10 μL混合形成Mix样品。使用IDA模式对2 μL Mix样品进行分析,总的进样时间设定为60 min。Peakview软件(版本1.6)提取保留时间6~50 min,质量范围350~1 500道尔顿的质谱峰,利用Swath Varlable Window Calculator(版本1.1)根据提取的数据计算采集窗口。

1.2.5 *蛋白IDA建库标准和MS-QUANT筛选差异蛋白* Target Number Of Window:80个;Low M/Z Limit:350道尔顿;Upper M/Z Limit:1 500道尔顿。Round Bin Edges To X Figures 1, Window Overlap:1道尔顿; Mininum Window Width:3道尔顿;CES:15。正离子模式,MS:350~1 500道尔顿;MS-MS:100~1 500道尔顿;High Sensitivity。根据上述参数编辑Swath采集方法。依据此方法质谱数据采集每个样品原始数据。

1.2.6 *生物信息学分析* 差异蛋白注释分类采用Uniprot数据库进行;功能富集分析采用软件DAVID6.8进行,包括基因本体(GO)功能及富集分析,KEGG Pathway富集分析。GO功能注释分别从生物过程(BP)、分子功能(MF)及细胞组分(CC)3个方

面进行。利用 String 10.5 对信号通路中的差异蛋白进行蛋白-蛋白相互作用网络(PPI)分析,利用 cytoscape(版本 3.9.0)对差异蛋白进行可视化相互作用分析。

1.3　统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用 one-way ANOVA 分析,进一步两两比较采用 Dunnentt's t 检验。不符合正态分布的数据采用非参数检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　差异蛋白鉴定结果

蛋白质组学分析显示,APAP 组与 Control 组相比,共鉴定出差异蛋白 310 个,其中表达上调蛋白 176 个,表达下调蛋白 134 个。通过火山图绘制两组样品中差异蛋白表达水平。见图 1A。GSH 组与 APAP 组相比共鉴定出差异蛋白 172 个,表达上调蛋白 95 个,表达下调蛋白 77 个,通过火山图绘制两组样品中差异蛋白表达水平。见图 1B。

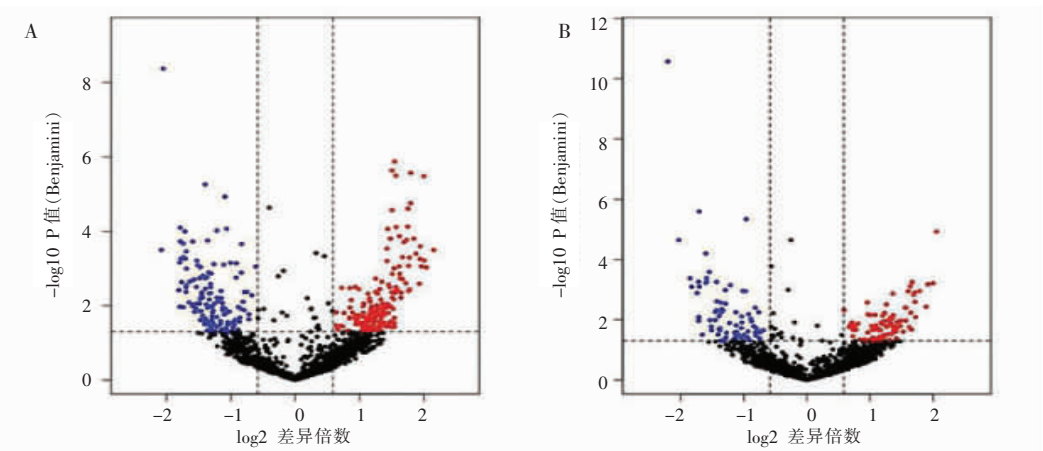
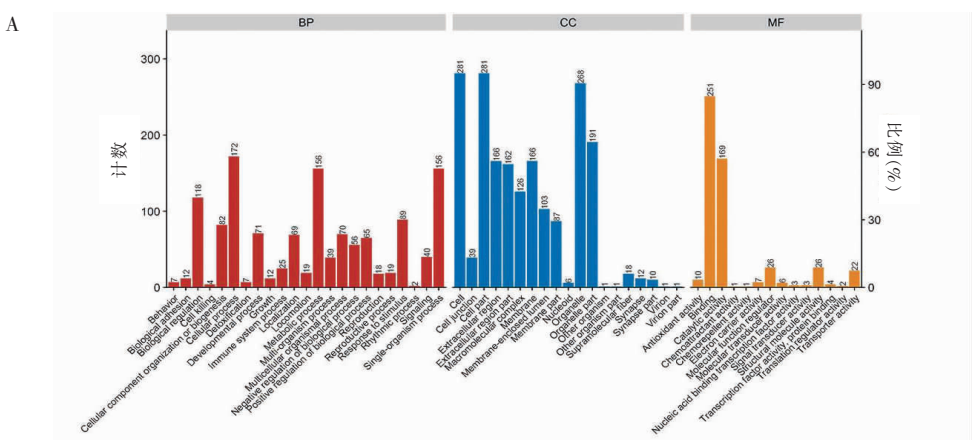


图 1　差异蛋白表达分布火山图

A. APAP 组 *vs*.Control 组;B. GSH 组 *vs*.APAP 组。

2.2　差异蛋白 GO 功能分析结果

运用 GO 在线工具对 APAP 组与 Control 组、GSH 组和 APAP 组差异蛋白在生物学过程、细胞组分和分子功能三方面进行 GO 功能注释和统计。见图 2。通过 GO 数据库对 APAP 组与 Control 组、GSH 组和 APAP 组的差异蛋白进行生物学过程、细胞组分和分子功能富集分析。见图 3 及图 4。APAP 组与 Control 组差异蛋白主要参与以下生物学过程:小分子代谢过程、羧酸代谢过程、含氧酸代谢过程、有机酸代谢过程、氧化还原过程等;主要包括以下细胞组分:胞外体、胞外小泡、胞外细胞器、胞外膜结合细胞器、膜结合小泡等;主要参与以下分子功能:Poly(A)RNA 结合、相同蛋白质结合、氧化还原酶活性、辅因子结合、RNA 结合等;主要定位在细胞质、胞外区、细胞膜、线粒体、内质网等。GSH 组和 APAP 组差异蛋白主要参与以下生物学过程:单体代谢过程、小分子代谢过程、大分子复合物组装、大分子复合物亚基组织等;主要包括以下细胞组分:胞外体、胞外小泡、胞外细胞器等;主要参与以下分子功能:钙粘蛋白结合、相同的蛋白质结合、细胞粘附分子结合、Poly(A)RNA 结合、辅因子结合等;主要定位在细胞质、细胞膜、胞外区、线粒体、内质网等。



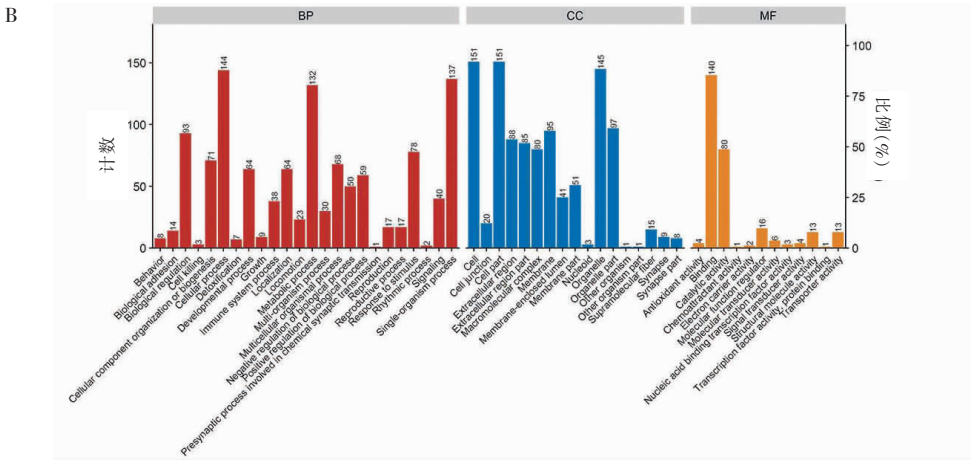


图 2　差异蛋白 GO 注释

A. APAP 组 *vs*.Control 组;B. GSH 组 *vs*.APAP 组。BP:生物学过程;CC:细胞组分;MF:分子功能。

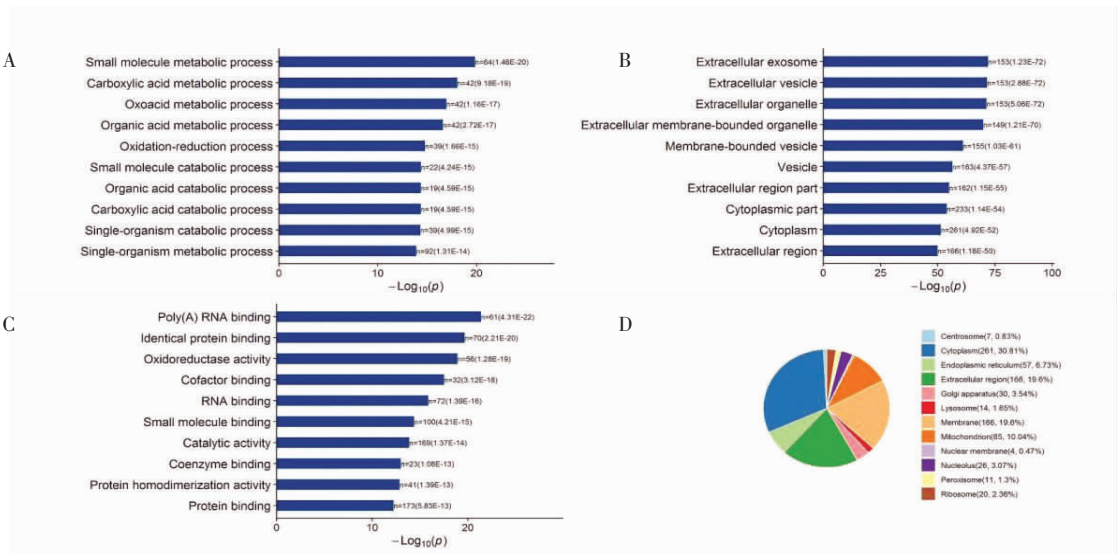


图 3　APAP 组与 Control 组差异蛋白 GO 生物功能富集分析

A. 生物学过程;B. 细胞组分;C. 分子功能;D. 细胞定位。

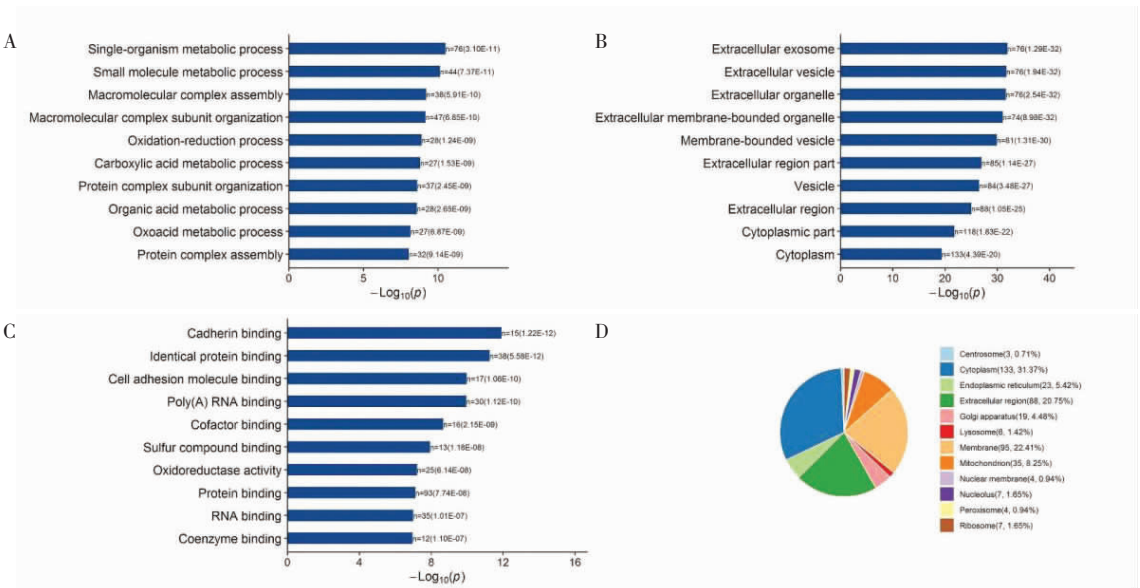


图 4　GSH 组与 APAP 组差异蛋白 GO 生物功能富集分析

A. 生物学过程;B. 细胞组分;C. 分子功能;D. 细胞定位。

2.3　差异蛋白 KEGG 分析结果

对 APAP 组与 Control 组差异蛋白进行 KEGG 通路注释分析,发现 APAP 组与 Control 组差异蛋白参与的前 30 条生物信号通路($P<0.05$)。差异蛋白依次富集在四大类信号通路上,分别是细胞过程、人类疾病、代谢、生物系统。GSH 组与 APAP 组差异蛋白参与的前 30 条生物信号通路($P<0.05$)。差异蛋白依次富集在五大类信号通路上,分别是细胞过程、基因信息处理、人类疾病、代谢、生物系统。其中,两组差异蛋白共同富集到的 KEGG 通路有氮代谢、脂肪酸代谢、乙醛酸和二羧酸代谢,黏附连接、缝隙连接;非酒精性脂肪肝,这些通路有 3 条归类于代谢,2 条归类于细胞过程,剩余 1 条属于人类疾病。见图 5。

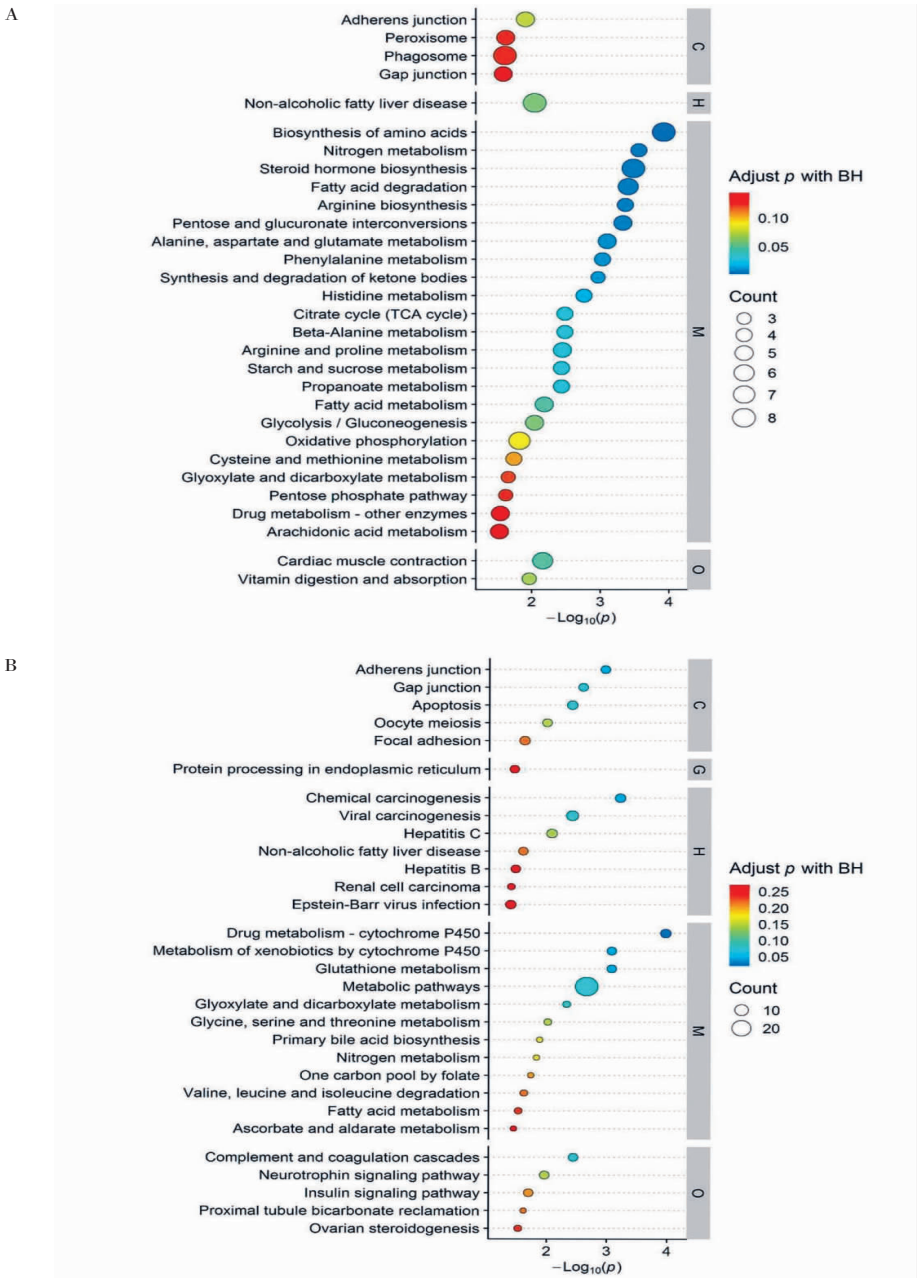


图 5　差异蛋白 KEGG 通路富集分析结果

A. APAP 组 *vs*. Control 组;B. GSH 组 *vs*. APAP 组。C:细胞过程;G:基因信息处理;H:人类疾病;M:代谢;O:生物系统。

2.4　差异蛋白 PPI 作用结果

采用 cytoscape 分别对 APAP 组与 Control 组、GSH 组与 APAP 组差异蛋白构建蛋白质-蛋白质相互作用网络。见图 6。

2.5　筛选 APAP 组与 Control 组、GSH 组与 APAP 组间的差异蛋白

APAP 组与 Control 组共有 310 个显著表达的差异蛋白;GSH 组与 APAP 组共有 172 个显著表达的

差异蛋白;其中有 67 个共同的差异蛋白,17 个差异蛋白在两组的表达变化趋势上出现了差别。膜联蛋白 A5(Anxa5)、碳酸酐酶 2(Ca2)、谷胱甘肽 S-转移酶 P1(Gstp1)、转凝蛋白(Tagln)、泛素羧基末端水解酶(Usp5)、波形蛋白(Vim)、14-3-3epsilon 蛋白(Ywhae)在 APAP 组上调,GSH 部分逆转了这些蛋白水平的上调;氧异戊酸脱氢酶亚基 α(Bckdha)、脂肪酸合酶(Fasn)、谷氨酰胺合成酶(Glul)、己酮糖磷酸激酶(Khk)、丙酮酸激酶(Pklr)、钙调素(Rgn)、Bile acyl-CoA 合成酶(Slc27a5)、UDP-N-乙酰氨基葡萄糖转运体(Slc35a3)、肝磺基转移酶(Sult2a8)、甲状腺运载蛋白(Urah)在 APAP 组下调,GSH 的使用又使这些蛋白的表达水平升高。见图 7 及表 1。

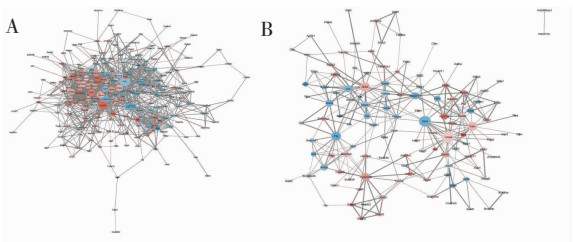


图 6 差异蛋白相互作用图

A. APAP 组 *vs.* Control 组;B. GSH 组 *vs.* APAP 组。

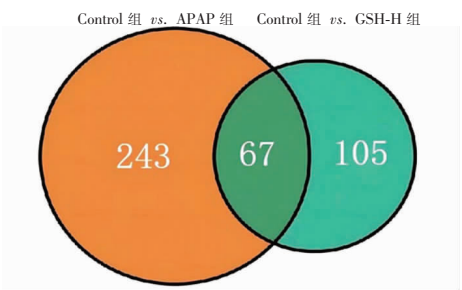


图 7 差异蛋白质维恩图

表 1 Control 组与 APAP 组和 GSH 组与 APAP 组共同差异蛋白信息列表

APAP 组 *vs.* Control 组	GSH 组 *vs.* APAP 组	蛋白名称	基因名称
下调	上调	2-oxoisovalerate dehydrogenase subunit alpha, mitochondrial、Fatty acid synthase、Glutamine synthetase、Ketohexokinase、Regucalcin、Pyruvate kinase、Bile acyl-CoA synthetase、UDP-N-acetylglucosamine transporter、Sulfotransferase 2A8、Transthyretin	Bckdha、Fasn、Glul、Khk、Rgn、Pklr、Slc27a5、Slc35a3、Sult2a8、Urah
上调	下调	Annexin A5、Carbonic anhydrase 2、Glutathione S-transferase P 1、Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase、Transgelin、Vimentin、14-3-3 protein epsilon、	Anxa5、Ca2、Gstp1、Usp5、Tagln、Vim、Ywhae

2.6 免疫组织化学验证共同差异蛋白表达

为验证蛋白质组学结果,课题组筛选了与凋亡相关的差异蛋白 Anxa5、Rgn、Tagln、Vim、Usp5 进行验证。见表 2。其中 Anxa5、Rgn 蛋白差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 Control 组比较,APAP 组 Anxa5、Rgn 蛋白表达明显升高($P < 0.05$);与 APAP 组比较,GSH 组 Anxa5 蛋白表达明显降低($P < 0.05$),Rgn 蛋白表达明显升高($P < 0.05$)。见图 8。

表 2 免疫组化 Anxa5、Rgn、Tagln、Vim、Usp5 蛋白水平($\bar{x} \pm s$, %, $n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	Anxa5	Rgn	Tagln	Vim	Usp5
Control 组	-	0	0	0	0	0
APAP 组	0.36	45.24±3.96①	15.82±3.11①	21.82±2.61①	14.66±2.81①	45.22±1.81①
GSH 组	0.40	22.65±3.65②	33.87±4.66②	19.34±3.38	19.21±3.46	39.36±2.76

①$P < 0.05$,与 Control 组比较;②$P < 0.05$,与 APAP 组比较。

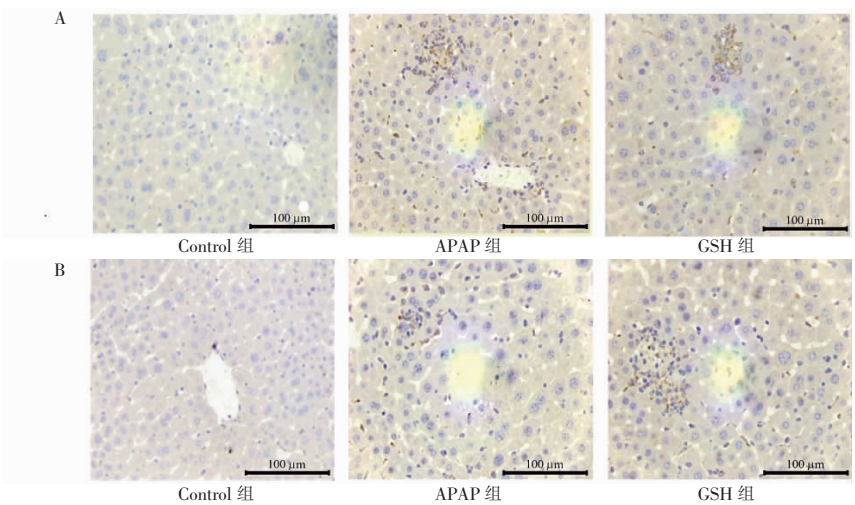


图 8 差异蛋白表达的免疫组化结果

A. Anxa5 蛋白;B. Rgn 蛋白。

3　讨论

WHO 指出,每 10 万名患者中有 10～15 例会发生药物性肝损伤[10],其中 APAP 是诱导药物相关肝损伤的典型代表药物。APAP 是用于解热止痛的常见药物,过量使用可导致肝细胞坏死,进而发生肝损伤,甚至肝衰竭[11]。GSH 是一种具有生物活性的三肽化合物,主要在肝脏合成,广泛分布于人体各组织器官,肝细胞中浓度相对较高[12]。其参与过氧化氢等物质的解毒反应,还能防御毒性物质的下游产物、代谢外源性毒性物质[4];可将有毒的有氧代谢产物还原为无毒的羟基化合物,从而保护细胞膜的结构和功能免受过氧化物的干扰和损伤;还可作为还原剂消除胞内的活性氧,阻止其诱导促炎症细胞因子的转录表达[13]。病理状态下,例如肝毒性药物、自由基等物质会损伤肝细胞,消耗体内 GSH 同时抑制 GSH 生成,导致肝细胞生物功能障碍,外源性补充 GSH 可减轻或阻断肝细胞的损害,缓解肝损伤。因此,GSH 在临床上被广泛用于解毒排毒、抗氧化、炎症和抗辐射损伤等[14]。

本研究蛋白组学分析显示,APAP 组 *vs*. Control 组与 GSH 组 *vs*. APAP 组有 17 个共同差异蛋白,GSH 可逆转 APAP 诱导的 Anxa5、Ca2、Gstp1、Tagln、Usp5、Vim、Ywhae 表达上调,以及 Bckdha、Fasn、Glul、Khk、Pklr、Rgn、Slc27a5、Slc35a3、Sult2a8、Urah 表达下调。Anxa5 属于膜联蛋白基因超家族[15],与细胞凋亡关系密切,研究[16]发现在各种凋亡刺激信号作用下 Anxa5 在心肌细胞表达增加,通过 Ca^{2+} 信号及线粒体代谢进一步加剧细胞凋亡。近期的一项生物信息学分析[17]发现,上调的 Anxa5 是 APAP 诱导肝损伤过程中的核心基因,与本研究结果一致。Rgn 是一类能结合钙离子的磷酸二酯酶激活蛋白,可通过 Ca^{2+}/CaM/CaMK Ⅱ 信号通路调节细胞凋亡[18],还可调节线粒体内外的钙离子平衡,影响线粒体膜的完整性和细胞凋亡信号的释放[19-20]。本研究发现,GSH 提高了 APAP 诱导损伤肝中 Rgn 蛋白表达,这可能是其发挥治疗作用的关键机制。此外,Tagln 可与肌动蛋白丝结合致其凝胶化,参与细胞形态、迁移、分化、增殖和细胞凋亡等肌动蛋白细胞骨架重塑的生物过程[21],其表达可降低心肌细胞凋亡[22]。Vim 的裂解可激活 Raf-1-CK2 和 Rho A-Rho 信号,促进 TNF-α 介导的细胞凋亡[23]。Usp5 也可促进脂多糖诱导的肝细胞炎症和细胞凋亡[24]。提示 Tagln、Vim、Usp5 均可能通过参与调控细胞凋亡以逆转 APAP 引起的肝损伤。既往研究[25]发现,APAP 诱导肝损伤的发病机制中,较为明确的有炎症反应、内质网应激及线粒体膜通透性改变等。这些过程可能是凋亡的下游过程,也可能继发凋亡,总之这些信号转导途径与凋亡的发生紧密相关。查阅文献发现,在上述 17 个蛋白中,Anxa5、Rgn、Tagln、Vim、Usp5 与凋亡过程密切相关,这表明这 5 个蛋白可能是 GSH 通过抑制肝细胞凋亡保护小鼠急性肝损伤的潜在靶点。

对差异蛋白进行 GO 功能富集分析发现,APAP 组与 Control 组、GSH 组与 APAP 组共同参与的生物学过程主要包括小分子代谢过程、羧酸代谢过程、含氧酸代谢过程、有机酸代谢过程、氧化还原过程等代谢过程。这些有机酸的代谢过程与肝细胞保护密切相关,对肝脏的氧化应激、炎症反应也具有调节作用[26-27]。KEGG Pathway 通路富集分析发现,这些差异蛋白主要富集在黏附连接、缝隙连接;非酒精性脂肪肝;氮代谢、脂肪酸代谢、乙醛酸和二羧酸代谢等途径。早期研究[28]发现,在 APAP 诱导的肝损伤中,油酰肉碱、棕榈酰肉碱、棕榈油酰肉碱和肉豆蔻酰肉碱等脂肪酸代谢途径发生了变化,并且逆转这些代谢重编程具有保护作用。除此之外氮代谢、脂肪酸氧化、线粒体损伤及活性氧产生均与细胞凋亡密切相关,可能是 GSH 治疗 APAP 诱导肝损伤的重要靶点[29-30]。分析表明,GSH 对 APAP 诱导肝损伤的保护作用可能通过调节氮代谢、有机酸代谢、脂肪酸代谢、氧化还原等作用途径实现,这些途径与细胞凋亡密切相关。

综上,GSH 可能通过抑制细胞凋亡对 APAP 诱导的小鼠急性肝损伤发挥保护作用,Anxa5、Rgn、Tagln、Vim、Usp5 是潜在作用靶点。可进一步挖掘差异蛋白功能,探索相关代谢通路生物学过程,为研究 GSH 对 APAP 诱导小鼠急性肝损伤的保护作用分子机制提供理论基础。

参考文献

[1] Tujios SR, Lee WM. Acute liver failure induced by idiosyncratic reaction to drugs: challenges in diagnosis and therapy[J]. Liver International, 2018, 38(1): 6-14.

[2] Donnelly MC, Davidson JS, Martin K, *et al*. Acute liver failure in Scotland: changes in aetiology and outcomes over time (the Scottish look-back study)[J]. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2017, 45(6): 833-843.

[3] Hu T, Huang WQ, Sun H. Research progress on hepatotoxicity of acetaminophen[J]. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi = Zhonghua Ganzangbing Zazhi = Chinese Journal of Hepatology, 2021, 29(3): 279-283.

[4] Lemmer IL, Willemsen N, Hilal N, *et al*. A guide to understanding endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders[J]. Molecular Metabolism, 2021, 47: 101169.

[5] 王寿明,耿家宝,王敏,等.乙酰半胱氨酸治疗药物性肝损伤疗效观察[J].肝脏,2017,22(1):32-34.

[6] Zyoud SH, Awang R, Sulaiman SA, *et al*. Relationship between serum acetaminophen concentration and N-acetylcysteine-induced adverse drug reactions[J]. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2010, 107(3): 718-723.

[7] Zyoud SH, Awang R, Sulaiman SA, *et al*. Effects of delay in infusion of N-acetylcysteine on appearance of adverse drug reactions after acetaminophen overdose: a retrospective study[J]. Pharmacoepidemiology and Drug Safety, 2010, 19(10): 1064-1070.

[8] 陈琦琪,陆慧慧,孙芳芳,等.药物性肝损伤慢性化研究进展[J].中国肝脏病杂志(电子版),2020,12(4):38-42.

[9] Aliev G. The modulation of beneficial and/or harmful effects of free oxygen radicals in the context of molecular mechanisms regarding drug-PART I[J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2019, 19(32): 2937-2939.

[10] Kancherla D, Gajendran M, Vallabhaneni P, *et al*. Metronidazole induced liver injury: a rare immune mediated drug reaction[J]. Case Reports in Gastrointestinal Medicine, 2013, 2013: 568193.

[11] 余朋飞,吴桥,段钟平,等.对乙酰氨基酚致药物性肝损伤的机制研究进展[J].临床肝胆病杂志,2019,35(9):2108-2112.

[12] Vairetti M, di Pasqua LG, Cagna M, *et al*. Changes in glutathione content in liver diseases: an update[J]. Antioxidants, 2021, 10(3): 364.

[13] Bansal A, Simon MC. Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance[J]. The Journal of Cell Biology, 2018, 217(7): 2291-2298.

[14] Teskey G, Abrahem R, Cao R, *et al*. Chapter five glutathione as a marker for human disease[J]. Advances in Clinical Chemistry, 2018, 87: 141-159.

[15] Wang X, Dai Y, Zhao Y, *et al*. AnnexinA5 might suppress the phenotype of human gastric cancer cells via ERK pathway[J]. Frontiers in Oncology, 2021, 11: 665105.

[16] Zhang Z, Zhang Y, Zhou R. Loss of Annexin A5 expression attenuates the lipopolysaccharide-induced inflammatory response of rat alveolar macrophages[J]. Cell Biology International, 2020, 44(2): 391-401.

[17] Zhao S, Feng Y, Zhang J, *et al*. Comparative analysis of gene expression between mice and humans in acetaminophen-induced liver injury by integrating bioinformatics analysis[J]. BMC Medical Genomics, 2024, 17(1): 80.

[18] 葛广全,赵峰,陈道虎,等.钙离子/钙调素依赖性蛋白激酶Ⅱ调控压力负荷心力衰竭小鼠心肌细胞肥大和凋亡的作用及机制[J].第二军医大学学报,2020,41(12):1314-1321.

[19] Fujisawa K, Terai S, Hirose Y, *et al*. Senescence marker protein 30 (SMP30)/regucalcin (RGN) expression decreases with aging, acute liver injuries and tumors in zebrafish[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, 414(2): 331-336.

[20] Yamaguchi M. The transcriptional regulation of regucalcin gene expression[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2011, 346(1-2): 147-171.

[21] Lew ZX, Zhou HM, Fang YY, *et al*. Transgelin interacts with PARP1 in human colon cancer cells[J]. Cancer Cell International, 2020, 20: 366.

[22] 李安莹,杨侃,杨琼. MicroRNA-133a在心肌梗死后心力衰竭大鼠心肌细胞中的表达及抗凋亡作用[J].中国动脉硬化杂志,2014,22(10):1001-1008.

[23] Yang L, Tang L, Dai F, *et al*. Raf-1/CK2 and RhoA/ROCK signaling promote TNF-α-mediated endothelial apoptosis via regulating vimentin cytoskeleton[J]. Toxicology, 2017, 389: 74-84.

[24] Shi S, Pan X, Chen M, *et al*. USP5 promotes lipopolysaccharide-induced apoptosis and inflammatory response by stabilizing the TXNIP protein[J]. Hepatology Communications, 2023, 7(8): e0193.

[25] Lv H, Zhen C, Liu J, *et al*. Unraveling the potential role of glutathione in multiple forms of cell death in cancer therapy[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 2019: 3150145.

[26] Wang Y, Zhang N, Zhou J, *et al*. Protective effects of several common amino acids, vitamins, organic acids, flavonoids and phenolic acids against hepatocyte damage caused by alcohol[J]. Foods, 2022, 11(19): 3014.

[27] Leipnitz G, Vargas CR, Wajner M. Disturbance of redox homeostasis as a contributing underlying pathomechanism of brain and liver alterations in 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency[J]. Journal of Inherited Metabolic Disease, 2015, 38(6): 1021-1028.

[28] Yu J, Jiang YS, Jiang Y, *et al*. Targeted metabolomic study indicating glycyrrhizin's protection against acetaminophen-induced liver damage through reversing fatty acid metabolism[J]. Phytotherapy Research, 2014, 28(6): 933-936.

[29] Beger RD, Bhattacharyya S, Yang X, *et al*. Translational biomarkers of acetaminophen-induced acute liver injury[J]. Archives of Toxicology, 2015, 89(9): 1497-1522.

[30] Chen S, Lu Z, Jia H, *et al*. Hepatocyte-specific Mas activation enhances lipophagy and fatty acid oxidation to protect against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice[J]. Journal of Hepatology, 2023, 78(3): 543-557.

(收稿日期:2024-06-22 修回日期:2024-11-06)