◇ 基础研究 ◇

http://www.cjcpt.com
2026 Aug; 31(8): 1027-1033

雷公藤甲素通过激活 JNK 通路诱发肝细胞损伤的机制研究

方怡萌，雷昕宜，马思涵，石文博，岑露泽，代曼云

宁波大学医学部公共卫生学院，宁波 315211，浙江

摘要　目的：探究雷公藤甲素（triptolide，TP）通过激活 JNK 通路介导肝细胞损伤的作用与机制。**方法：**利用人肝癌细胞 HepG2 和小鼠肝原代细胞，暴露于不同剂量（25、50、100 nmol/L）与时间（24、48 h）的 TP，检测丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）水平以评估肝细胞活力与功能；用 Western blotting 检测 JNK 通路相关蛋白表达水平；用 JC-1 荧光探针检测线粒体膜电位变化；结合 JNK 特异性抑制剂 SP600125（SP）进行干预验证。**结果：**经不同剂量的 TP 暴露 24 h 后，培养基中 ALT、AST 水平明显升高（P<0.05），同时剂量依赖性抑制 HepG2 细胞活力；Western blotting 检测到 HepG2 细胞和小鼠肝原代细胞在不同剂量与时间的 TP 处理下，p-JNK 的表达量与 TP 浓度和暴露时间呈现正相关；JC-1 检测 HepG2 细胞经不同剂量 TP 处理 24 h 后，线粒体膜电位显著变化，引起线粒体损伤，抑制肝细胞活力，且损伤程度与剂量呈正相关；预先暴露 JNK 抑制剂 SP 可显著逆转 TP 对 p-JNK 激活作用，ALT、AST 水平较 TP 组明显降低（P < 0.05），恢复细胞活力。**结论：**TP 可显著抑制肝细胞活力并损害其功能，其机制可能是通过激活 JNK 通路导致线粒体损伤。

关键词　雷公藤甲素；肝毒性；JNK 通路；肝损伤

中图分类号：R965.2

文献标志码：A

2025-10-21 收稿　2026-01-26 修回

宁波自然科学基金（2023J069）；浙江省自然科学基金（LQ24H280002）；国家自然科学基金（82304126）；海尔施生物医药转化基金（HX2024000016）；宁波大学“大学生科研创新计划”（2025SRIP1915）

方怡萌，女，研究方向：中药毒理与药理学。

E-mail: 19012936712@163.com

代曼云，通信作者，女，博士，硕士生导师，研究方向：环境与食品毒理学，代谢性疾病发生机制与药物发现。

E-mail: daimanyun@nbu.edu.cn

文 章 编 号：1009-2501(2026)08-1027-07

doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2026.08.003

由传统中药引起的肝损伤是临床上药物性肝损伤的重要原因之一。雷公藤甲素（triptolide，TP）作为传统中药雷公藤的主要活性成分，因其显著的抗炎、免疫抑制和抗肿瘤作用，在临床上被广泛用于治疗类风湿性关节炎和系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病[1-2]。然而，其严重的肝毒性问题日益受到关注，临床数据显示，约 30% 的患者在服药后出现不同程度的肝功能异常，主要表现为血清丙氨酸氨基转移酶（ALT）和天冬氨酸氨基转移酶（AST）水平显著升高，严重情况下可进展为药物性肝炎甚至急性肝衰竭[3-4]。现有研究表明，TP 可能通过多种机制诱导肝损伤，包括直接细胞毒性、焦亡、代谢异常和免疫反应[2, 5]。然而，其核心分子机制尚未阐明，这一关键科学问题严重制约了 TP 的临床安全应用。

c-Jun N 末端激酶（JNK）通路是 MAPK 信号通路的重要成员，参与调控细胞应激、凋亡和自噬等多种生物学过程，在肝损伤中发挥关键作用[6-7]。大量研究表明，JNK 通路的异常激活与多种肝脏疾病密切相关，包括酒精性肝病、非酒精性脂肪肝和药物性肝损伤等[8-10]。在药物性肝损伤的过程中，活化的 JNK 转位至线粒体，通过调控 Bcl-2 家族蛋白的磷酸化状态，诱导了线粒体功能障碍和细胞凋亡[11-13]。然而，JNK 通路是否通过类似机制在 TP 引起的肝损伤中发挥作用及其与线粒体功能障碍的具体关系尚不清楚，进一步研究这一问题将有助于阐明 TP 肝毒性的分子机制。

本研究旨在系统阐明 TP 通过 JNK 途径诱导肝细胞损伤的分子机制。以人类肝癌细胞系 HepG2 和小鼠原代肝细胞作为实验模型，评估 JNK 激活状态和线粒体功能等指标，并结合 JNK 特异性抑制剂 SP，探究 TP 通过激活 JNK 通路

介导肝细胞损伤的作用与机制，为加深对 TP 肝毒性的理解和临床应用 JNK 抑制剂开发联合用药治疗肝损伤提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞及动物 细胞：人肝癌细胞 HepG2；小鼠肝原代细胞。动物：SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠（小鼠购买自维通利华，合格证是 20240328Abzz0619027579，动物伦理号为 NBU20220258）。

1.2 药品与试剂 TP（质量分数>98%）（成都瑞芬思）；p-JNK 抑制剂 SP600125（HY-12041）、Gly-β-MCA（HY-114392）、Fexaramine（HY-10912）、Estradiol （cypionate）（HY-B1100）购自 MedChemExpress；PBS 稀释液（E607008）、青霉素/链霉素溶液（B540732）购自生工生物工程；WilliamE 培养基（22551089）、HBSS（不含钙、镁、酚红）（14175095）、Hanks（含钙、镁，无酚红）（14025092）、Ⅳ胶原酶（17104019）购自 Thermo Scientific；胎牛血清（FSP500）购自 ExCell；胰岛素（I8040）、地塞米松（D8040）购自北京索莱宝科技；DMEM（高糖）培养基（基础）（E600004）购自生工生物工程（上海）股份有限公司；细胞筛（70 μm）（258368）购自无锡耐思生命科技股份有限公司；APTT 试剂盒（A0300-050）购自对应厂家；胰酶；BCA 蛋白浓度试剂盒（7780S）、GAPDH（2118T）、p-JNK 抗体（9252T）、t-JNK 抗体（9252T）、RIPA 蛋白裂解液（9806S）购自 CST、HRP-conjugated Affinipure Goat Anti-Rabbit lgG（H+L）二抗（批次 SA 07-025S）购自 proteintech；增强型线粒体膜电位检测试剂盒（JC-1）（C2003S）购自上海碧云天生物技术。

1.3 主要仪器 微型离心机（德国 Eppendorf 股份公司）、徕卡 DM3000 正置荧光显微镜（德国徕卡公司）、Infinite M200 Pro 多功能全波长酶标仪（奥地利 TECAN 公司）、小型垂直电泳系统（美国 Bio-Rad 公司）、tanon-5300M 超灵敏化学发光成像系统（中国天能公司）。

1.4 人肝癌细胞的培养 人肝癌细胞用含 10% 胎牛血清（FBS）、100 μg/mL 链霉素和 100 U/mL 青霉素的 DMEM 完全培养基。细胞在 37 ℃、5% CO_2 和 95% 空气的恒温培养箱中培养，维持适宜的 pH 和温度条件。培养基每隔 2 ~ 3 d 更换一次，确保细胞获得充足的营养。当细胞达到 80% ~ 90% 融合度时，使用 0.25% 胰酶-EDTA 溶液进行消化传代，以维持细胞的生长状态和实验的连续性。

1.5 小鼠肝原代细胞的分离和培养 C57BL/6J 雄性小鼠饲养于宁波大学实验中心 SPF 环境中，温度 21 ~ 25 ℃，相对湿度 40% ~ 70%，12 h 昼夜循环，维持 12 h 的光照–黑暗循环，确保小鼠可自由获取标准实验室饲料和水，并在动物实验开始前让小鼠进行 5 d 的环境适应及隔离观察。实验前需配制第一灌注液（HBSS 不含钙镁+1% 双抗）和第二灌注液（0.25 mg/mL Ⅳ胶原酶，用 HBSS 含钙镁溶解并过滤），同时制备 William E 培养基（William 培养基+10% 胎牛血清+1% 双抗+胰岛素 0.5 U/mL+地塞米松 4×10^{-4} mg/mL），所有手术器械及耗材需经紫外灭菌 30 min。实验时，将小鼠麻醉后固定，消毒腹部皮肤，剪开腹腔暴露门静脉和下腔静脉，使用头皮针插入门静脉进行 HBSS 灌注直至肝脏变白，剪断下腔静脉释放压力后更换胶原酶灌注液，通过轻柔按压下腔静脉促进消化至肝脏充分膨胀。随后游离肝脏并浸入消化液，用无菌镊子轻柔撕裂肝叶，经温和吹打使细胞悬浮后通过 70 ~ 75 μm 滤网过滤，滤液经 300 r/min、4 ℃ 离心 5 min 后弃上清，用预冷培养基重悬细胞并重复洗涤 3 次。细胞计数后按实验需求调整密度铺板（如 6 孔板每孔 1.5 mL），铺板前充分振荡混匀并在显微镜下确认细胞密度，置于 37 ℃ 培养箱中培养 12 h 后更换新鲜培养基。后续实验选用对数生长期细胞，分别以不同浓度 TP 处理，采用 MMP 评估线粒体功能状态，并通过 Western blotting 技术分析 JNK 信号通路相关蛋白表达。

1.6 药物溶液的配置 精密称取 TP 或 JNK 抑制剂 SP600125（SP）粉末，用所需量的二甲基亚砜（DMSO）充分溶解后，立即用完全细胞培养基稀释至所需终浓度。TP 剂量浓度分别为 25、50、100 nmol/L，SP 剂量浓度分别为 0.1、1、10 nmol/L。所有组别的培养体系，DMSO 的最终体积浓度均严格保持为 0.1%。对照组加入等体积的 DMSO，使其终浓度达到 0.1%，作为溶剂对照以排除其潜在影响。

1.7 细胞造模与分组 HepG2：TP 暴露毒性实验，剂量实验（对照组、TP 25、50、100 nmol/L 剂量组分别暴露 24、48 h）；时间实验（对照组、TP 时间组在 50 nmol/L 剂量暴露于 0、4、12、24 h）。

JNK 抑制剂 SP600125 验证实验，剂量实验（对照组、SP 0、0.1、1、10 nmol/L 剂量组预先处理 3 h 后加入 50 nmol/L TP 分别暴露 4、12 h）；干预实验（对照组、SP 干预组预先暴露 3 h 后加入 TP 25、50、100 nmol/L）。

肝原代细胞：剂量实验（对照组、TP 25、50、100 nmol/L 剂量组分别暴露 24、48 h）；时间实验（对照组、TP 时间组在 50 nmol/L 剂量暴露于 0、4、12、24 h）。

1.8　线粒体膜电位（MMP）评估线粒体功能状态　按“1.4”项下方法处理细胞，用 MMP 评估线粒体功能状态，TP 暴露处理结束后，弃去培养基，PBS 轻柔洗涤 2 次，胰酶消化（避免过度消化），离心（1 000 r/min，5 min）收集细胞。用预冷的 PBS 重悬细胞，调整密度至 1×10^6 cells/mL，加入等体积 JC-1 染色工作液，混匀后 37 ℃ 避光孵育 20 min。4 ℃ 离心（1 000 r/min，5 min），弃上清，用 1× JC-1 染色缓冲液洗涤 2 次，去除游离染料。流式细胞术检测（定量）用 500 μL PBS 重悬细胞，立即上机检测。红色荧光（聚集体）：Ex/Em = 585/590 nmol/L（FL2 通道）。绿色荧光（单体）：Ex/Em = 514/529 nmol/L（FL1 通道）。数据分析：计算各组红/绿荧光比值，比值下降表明 MMP 降低。用抗荧光淬灭封片剂封片，在荧光显微镜下观察，正常 MMP 以红色荧光（线粒体聚集体）为主。MMP 下降以绿色荧光（单体）增强，红色减弱，计算红/绿荧光比值，以评估线粒体膜电位的变化。

1.9　Western blotting 检测　按“1.4”项下方法处理细胞，处理结束后，弃培养基，预冷 PBS 洗涤 2 次。每孔加入 100 μL RIPA 裂解液（含 1% PMSF 和蛋白酶抑制剂），冰上裂解 30 min。刮取细胞，4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min，收集上清（蛋白样品）。BCA 法测定蛋白浓度，调整至统一 2 μg/μL 浓度。配制 10% 分离胶，5% 浓缩胶。每孔上样 20 ~ 30 μg 蛋白，加入 5×Loading Buffer 煮沸 5 min。恒压 80 V（浓缩胶）至 120 V（分离胶），电泳至溴酚蓝到达胶底部。采用湿转法转模，切胶，与 PVDF 膜（甲醇激活）一同装入转膜夹。在恒流 200 mA，90 min 条件下转膜，转膜缓冲液为 25 mmol/L Tris-base，192 mmol/L glycine，20% methanol。用丽春红染色确认转膜效率，随后 TBST 洗去染料。用 5% 脱脂牛奶（或 BSA）室温封闭 1 h，TBST 洗 3 次×5 min。用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 溶液室温封闭 3 ~ 4 h，加入一抗（p-JNK、t-JNK，稀释比例 1:1 000），内参 [GAPDH（1:10 000）]，4 ℃ 孵育过夜（或室温 3 ~ 4 h）。HRP 标记二抗（SA00001-1，稀释比例 1:5 000），室温孵育 1 h，TBST 洗 3 次×10 min。按 1:1 混合 ECL 发光液，滴加至膜上，避光反应 1 min，化学发光仪成像（或 X 光片曝光）。Image J 软件分析条带灰度值，计算目标蛋白与内参比值，统计各浓度组蛋白表达变化。

1.10　ALT、AST 检测　按“1.4”项下方法处理细胞，处理结束后，收集细胞培养上清液，4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min，取上清用于 ALT 和 AST 活性检测。在冰上将小鼠细胞上清 2 μL 与 AST/ALT 试剂 R1 和 R2 混合液（4∶1）100 μL 加入 96 孔板中，随后使用酶标仪（设置程序为 37 ℃ 恒温，振动 96 孔板 120 s）在 340 nmol/L 波长下测定 0 ~ 10 min 内的吸光度值（每 30 s 读数一次），最终通过时间与 OD 值拟合曲线计算斜率，并按公式“AST/ALT 酶活力（U/L）=斜率×5 144.7”计算酶活性。

1.11　统计学处理　实验数据用均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，多组间均数比较采用方差分析，所有统计分析均使用 GraphPad Prism 9.5 软件处理，以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　TP 对小鼠肝细胞功能的影响　与对照组相比，TP 处理 24 h 可剂量依赖性地上调 HepG2 细胞培养上清中 ALT、AST 水平（P<0.05）；当处理时间延长至 48 h 时，各剂量 TP 组间 ALT、AST 水平未呈现如 24 h 时的明显剂量递增趋势，且总体水平较 24 h 时有所下降。提示 TP 诱导的肝细胞功能损伤在 24 h 时已较为显著且稳定，故后续机制研究选取 24 h 作为作用时间点（P<0.05）。见 Fig.1。由此可见，HepG2 细胞暴露 TP 后出现明显的细胞功能紊乱。

2.2　TP 对 HepG2 细胞和小鼠肝原代细胞磷酸化 JNK（p-JNK）、t-JNK 和 GAPDH 表达的影响　HepG2 细胞和小鼠肝原代细胞经不同浓度的 TP 处理 24 h 后，利用 Western blotting 检测 p-JNK、t-JNK 和 GAPDH 的表达，结果显示随着 TP 浓度的提高，p-JNK 的表达显著升高，t-JNK 和 GAPDH

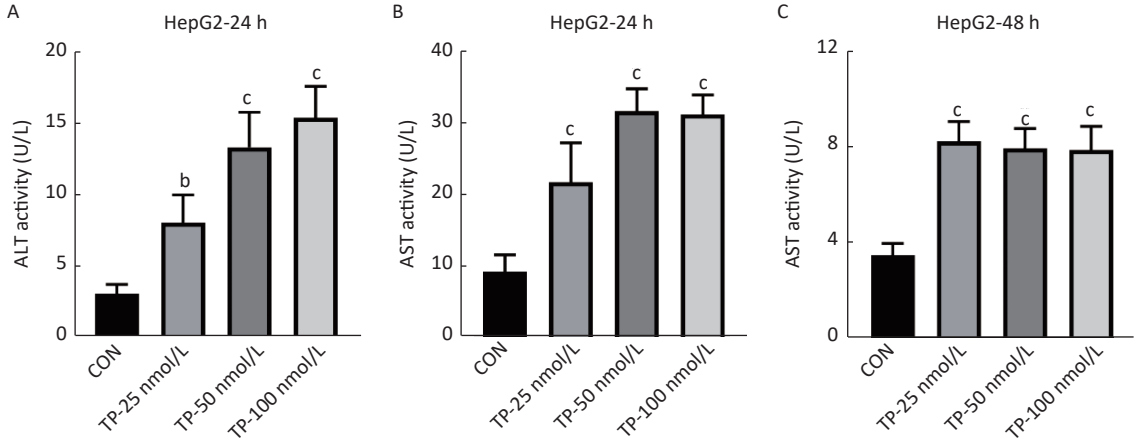


Fig.1 Effects of different doses of triptolide on hepatocyte function in HepG2 cells ($\bar{x} \pm s$, n=3)

A: 24 h plasma ALT level; B: 24 h plasma AST level; C: 48 h plasma AST level. ^{b}P<0.05, ^{c}P<0.01, compared with the control group.

的表达几乎不变。为了比较 TP 不同处理时间对 p-JNK、t-JNK 和 GAPDH 的表达，将 HepG2 细胞经 50 nmol/L 的 TP 处理 4、12、24 h 后，检测 p-JNK、t-JNK 和 GAPDH 的表达，结果显示不同处理时间均引起 p-JNK 表达显著升高，且时间越长，p-JNK 的表达越高。详见 Fig.2。由此可见，HepG2 细胞和小鼠肝原代细胞暴露 TP 后 JNK 通路被明显激活。

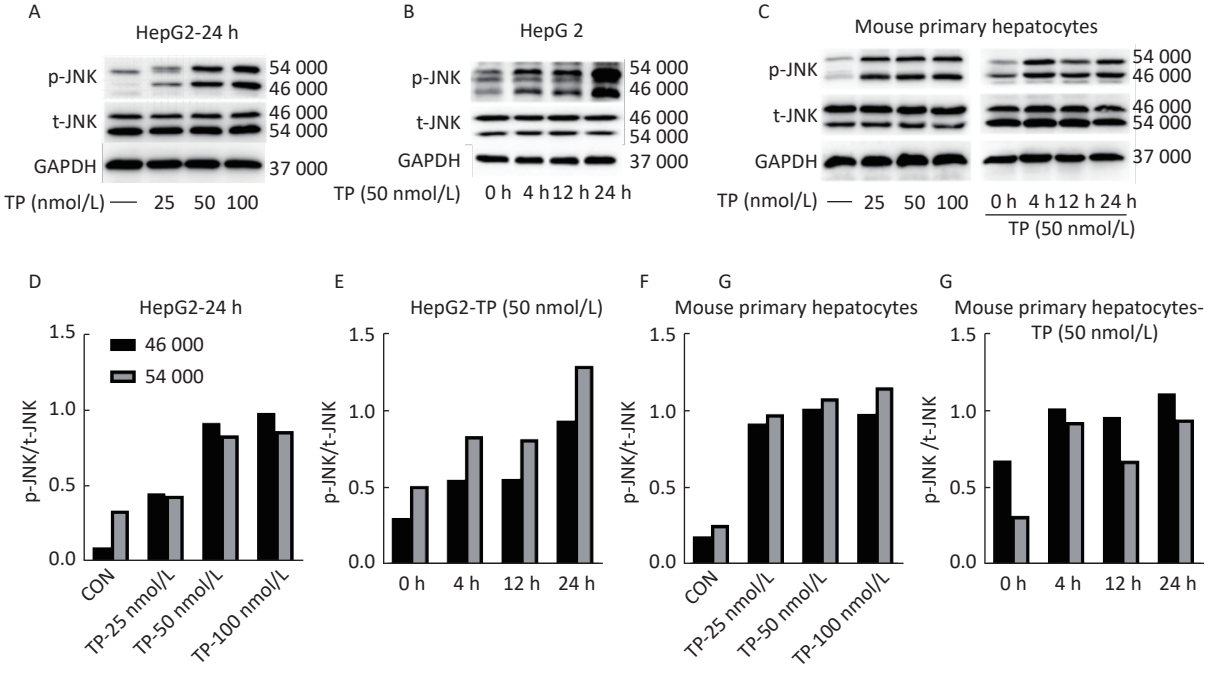


Fig.2 Effects of triptolide dose and treatment time on the expression of phosphorylated JNK (p-JNK), total JNK (t-JNK), and GAPDH in HepG2 cells and primary mouse hepatocytes

A: protein expression levels at different TP doses in HepG2 cells; B: protein expression levels at different time points of TP treatment in HepG2 cells; C: primary mouse hepatocyte protein expression; D: relative expression level of p-JNK protein in Fig.A; E: relative expression level of p-JNK protein in Fig.B; F, G: relative expression level of p-JNK protein in Fig.C.

2.3 TP 对 HepG2 线粒体功能的影响 HepG2 细胞经 25、50、100 nmol/L 的 TP 处理 24 h 后，用红绿荧光比值检测 MMP，评估线粒体功能状态，结果显示随着 TP 剂量升高，线粒体损伤逐渐增强。详见 Fig.3。由此可见 TP 可以显著抑制细胞活力，引起线粒体损伤。

2.4 JNK 通路特异性抑制剂 SP 对 HepG2 细胞肝细胞功能紊乱的影响 与对照组比较，发现预先使用 JNK 抑制剂 SP 处理可显著抑制 TP 诱导的 ALT 和 AST 水平升高（P<0.05）；此外，HepG2 细胞

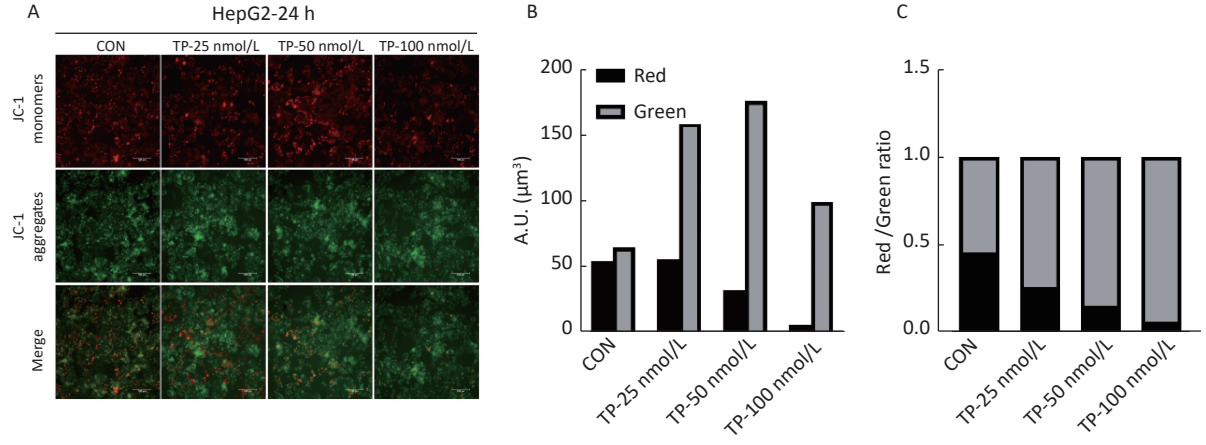


Fig.3　Effect of triptolide on mitochondrial function in HepG2 Cells

A: fluorescence images of different TP doses in HepG2 cells; B: the expression level of red and green fluorescent per unit area in Fig.A; C: the ratio of red and green fluorescent signals in Fig.A.

中加入 0、0.1、1、10 nmol/L 的 JNK 抑制剂 SP 后经 50 nmol/L TP 暴露处理 4、12 h，利用 Western blotting 检测 p-JNK、t-JNK 和 GAPDH 的表达，结果显示预先暴露 SP，可明显阻止 TP 对 p-JNK 的激活作用，且呈现剂量依赖性。见 Fig.4。由此可见，SP 通过抑制 JNK 通路可以改善 TP 诱导的细胞功能紊乱程度。

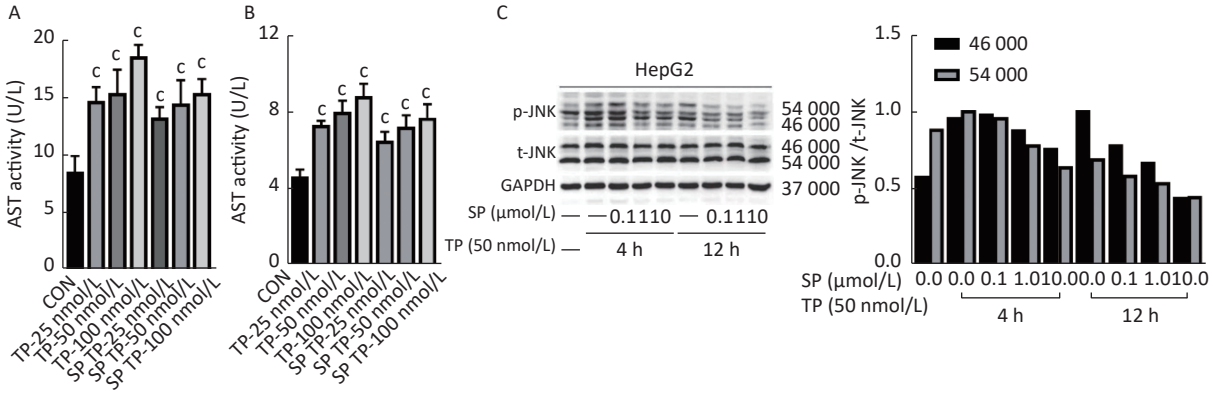


Fig.4　Effect of the JNK pathway-specific inhibitor SP on HepG2 hepatocyte dysfunction ($\bar{x} \pm s$, n=5)

A: AST levels; B: ALT levels; C: protein expression with the JNK inhibitor SP at varying doses and time points in the presence of triptolide; D: relative expression level of p-JNK protein in Fig.C. ^cP<0.01, compared with the control group.

3　讨论

TP 的临床应用受限于其肝毒性，本研究证实 JNK 通路的异常激活是 TP 诱导肝损伤的关键机制。在生理状态下，JNK 作为 MAPK 家族成员可以通过 Keap1-Nrf2 等抗氧化通路维持低水平活化，参与细胞应激的适应性调节[7, 14-15]。然而，TP 的暴露处理显著打破了这一平衡：本实验结果显示，与空白对照组比较，TP 以剂量和时间的双重依赖性，显著上调 p-JNK 蛋白的表达水平，这与肝细胞损伤标志物（ALT/AST）表达高度一致[4, 16]。更重要的是，JNK 通路特异性抑制剂 SP 能够有效逆转 TP 诱导的细胞功能紊乱程度，也说明 JNK 通路过度活化是 TP 肝毒性的核心因素。这些发现揭示了 TP 肝毒性的关键分子机制，也为靶向干预提供了依据。

同时，本研究结果显示 TP 诱发的肝细胞损伤伴随明显的线粒体功能障碍，具体表现为线粒体膜电位的明显降低以及线粒体超微结构完整性的破坏。进一步研究表明，JNK 通路的异常激活与线粒体损伤过程存在密切关联，这种关联可能是通过与线粒体外膜上的结合蛋白结合或者调控线粒体相关蛋白的磷酸化修饰状态来实现的，从而导致线粒体功能紊乱[17-18]。作为细胞能量代谢的

调控中心，线粒体的损伤不仅可以直接影响ATP生物合成的效率，引发细胞能量代谢失衡[19]，还可以通过促凋亡因子的异常释放等多种途径进一步加重肝细胞损伤程度[12, 20-21]。这些研究结果验证了JNK-线粒体在TP诱导肝细胞损伤中扮演重要角色，为理解其肝毒性作用提供了新的分子层面的依据。

综上所述，TP可通过特异性激活JNK信号转导通路，导致线粒体功能紊乱，进而诱发肝细胞损伤。我们明确了JNK通路可作为预测TP诱导的肝毒性的关键分子靶点，提供了一个新的临床检测指标；此外，我们还证实JNK通路抑制剂具有逆转肝毒性的潜力，为防治TP相关药物性肝损伤提供了新思路。未来的研究可以集中在开发个性化治疗策略以监测JNK活性，从而实现早期毒性预警；优化JNK抑制剂的剂量方案以平衡TP的肝毒性作用；也可进一步探索JNK通路下游的具体效应分子及其作用机制，并在动物疾病模型中验证JNK抑制剂的肝保护效果，以提供更有力的证据来制定预防和治疗TP诱导的肝毒性的策略。

参考文献

[1] 崔东晓, 乐世俊, 徐顶巧, 等. 雷公藤多苷及其主要活性成分抑制类风湿性关节炎的作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6913-6921.

[2] Zhang B, Lin Q, Dai M, et al. Triptophenolide aggravates triptolide-induced liver injury through disrupting the biological function of intestine [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2025, 500: 117354.

[3] 唐千茴, 张昊然, 张陆勇, 等. 雷公藤甲素肝损伤研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2025, 22(2): 121-127.

[4] 周巧逢, 雷敏, 郭西英, 等. 雷公藤红素改善2型糖尿病大鼠肝纤维化的机制探讨 [J]. 皖南医学院学报, 2024, 43(2): 121-125.

[5] Hang S, Xu L, Wang J, et al. Toxicological mechanism of triptolide-induced liver injury [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2025, 39(6): e70319.

[6] 冯卓, 李季, 赵晓君, 等. 基于JNK信号通路探讨益肾调督针法对脑缺血再灌注大鼠神经细胞凋亡的调控作用 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(21): 5304-5307.

[7] Tuttis K, Thomazela MAR, Santos PWDS, et al. Sulforaphane combined with vitamin D induces cytotoxicity mediated by oxidative stress, DNA damage, autophagy, and JNK/MAPK pathway modulation in human prostate tumor cells [J]. Nutrients, 2023, 15(12): 2742.

[8] 刘庆生, 蔡丹莉, 陈芝芸, 等. 三七对酒精性肝病大鼠肝组织NF-κB、c-Jun表达的影响 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(18): 1384-1388.

[9] 吴鹏波, 王希君, 吴晓曼, 等. IRE1α-JNK通路对早期非酒精性脂肪性肝病作用研究 [J]. 医学研究杂志, 2020, 49(11): 74-77.

[10] Zhang Y, Ma B, Hao S, et al. Drug-induced liver injury: oltipraz and C2-ceramide intervene HNF-1α/GSTA1 expression via JNK signaling pathway [J]. J Appl Toxicol, 2021, 41(12): 2011-2020.

[11] 耿宏伟, 贺介甫, 陈超爽, 等. 甘草查尔酮A通过激活线粒体依赖性凋亡途径抑制结直肠癌HT29细胞增殖研究 [J]. 肿瘤药学, 2025, 15(5): 656-663.

[12] 付加伟, 曾叙森, 黄玲玲, 等. 中药多糖防治胃癌的机制研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2025, 39(6): 84-90.

[13] 赵培, 侯福山, 郭石平. 影响肺癌细胞自噬与线粒体功能的共同信号通路进展 [J]. 延安大学学报 (医学科学版), 2024, 22(4): 92-97.

[14] 邓刚, 朱立新, 郭家松, 等. 中药小分子治疗骨关节炎的研究进展 [J]. 实用医学杂志, 2024, 40(23): 3389-3393.

[15] 朱建伟. MAPK/纤调蛋白信号通路在氧化应激介导慢性胰腺炎纤维化中的机制研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2018.

[16] Tinkov AA, Korobeinikova TV, Zhou JC, et al. Serum levels of trace elements and minerals in non-alcoholic fatty liver disease patients with and without type 2 diabetes are associated with metabolic risk markers [J]. Biol Trace Elem Res, 2025, 204(4): 2822-2840.

[17] Yang Y. Analysis of pathogenesis and treatment of endoplasmic reticulum stress in cardiovascular disease [C]. The 2023 International Conference on Modern Medicine and Global Health (ICMMGH 2023), 2023: 187-193.

[18] Gupta R. Phosphorylation of rat brain purified mitochondrial voltage-dependent anion channel by c-Jun N-terminal kinase-3 modifies open-channel noise [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 490(4): 1221-1225.

[19] 张恒, 刘春晓, 李媛媛, 等. 加减枳实薤白桂枝汤通过激活线粒体ATP敏感性钾通道抑制缺血再灌注心肌线粒体凋亡途径 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(10): 840-846.

[20] 李茵, 袁茵, 李蒙, 等. 中药活性成分调控凋亡途径干

预病理性瘢痕的研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2024, 38(2): 97-102.

[21] Gao L, Li YJ, Zhao JM, et al. Mechanism of reactive oxygen/nitrogen species in liver ischemia-reperfusion injury and preventive effect of Chinese medicine [J]. Chin J Integr Med, 2025, 31(5): 462-473.

Mechanism study on the liver cell damage induced by triptolide through activating the JNK pathway

FANG Yimeng, LEI Xinyi, MA Sihan, SHI Wenbo, CEN Luze, DAI Manyun

School of Public Health, Faculty of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, Zhejiang, China

ABSTRACT **AIM**: To investigate the role and mechanism of triptolide (TP) in mediating liver cell damage through activation of the JNK pathway. **METHODS**: Using human hepatocellular carcinoma cells HepG2 and primary mouse hepatocytes, exposure to different doses (25, 50, 100 nmol/L) and times was conducted to assess liver cell viability and function by measuring ALT and AST levels; Western blotting was employed to detect the expression levels of JNK pathway-related proteins; the JC-1 fluorescent probe was used to detect changes in mitochondrial membrane potential; the specific JNK inhibitor SP600125 (SP) was used for intervention verification. **RESULTS**: After exposure to different doses of TP for 24 hours, the levels of ALT and AST in the culture medium significantly increased (P<0.05), simultaneously dose-dependently inhibiting HepG2 cell viability; Western blotting detected that p-JNK expression in HepG2 cells and mouse primary liver cells under different doses and times of TP treatment showed a positive correlation with TP concentration and exposure time; the JC-1 assay revealed significant changes in mitochondrial membrane potential in HepG2 cells treated with different doses of triptolide for 24 hours, leading to mitochondrial damage and inhibition of liver cell viability, with the degree of damage correlating positively with dose; pre-exposure to the JNK inhibitor SP significantly reversed the TP-induced activation of p-JNK, resulting in significantly lower ALT and AST levels compared to the TP group (P<0.05), restoring cell viability. **CONCLUSION**: TP can significantly inhibit liver cell viability and impair their function, possibly by activating the JNK pathway and causing mitochondrial damage.

KEYWORDS triptolide; liver toxicity; JNK pathway; liver damage