

细胞自噬在中药源性肝损伤中的双重作用及防治策略研究进展^{*}

章婷萍¹, 李梦雨², 顾春宇², 胡璟祺², 孔 娇^{3**}, 刘传鑫^{1**}

(1. 河南科技大学临床医学院 河南科技大学第一附属医院内分泌代谢中心 河南省罕见病重点实验室
洛阳市临床多组学与转化医学重点实验室 洛阳 471003; 2. 北京中医药大学中药学院 北京 102488;
3. 浙江大学药学院药物代谢和药物分析研究所 杭州 310058)

摘 要:目的 系统梳理细胞自噬与中药源性肝损伤的相互作用和肝损伤发生机制,并就中药源性肝损伤防治策略进行总结。方法 基于中国知网、万方、PubMed、Web of Science 数据库的检索,查阅近十年内关于细胞自噬及中药源性肝损伤相关文献,阐明细胞自噬与疾病发生间的关系,归纳细胞自噬引起中药源性肝损伤的常见药物及作用机制,总结中药源性肝损伤的防治策略。结果 细胞自噬在中药源性肝损伤的发生发展中具有双重调控作用,细胞自噬在过分活跃或过度抑制的情况下可通过影响自噬通路或自噬相关分子的表达,诱发中药源性肝损伤。结论 细胞自噬通路的调控,有望成为防治中药源性肝损伤的新途径,针对性的制定防治策略是实现中草药安全性风险监测的重要措施。

关键词:细胞自噬 中药源性肝损伤 信号通路 防治策略 作用机制

doi: 10.11842/wst.20230711002 中图分类号: R-058 文献标识码: A

中药源性肝损害(Herb-induced liver injury, HILI)是由中药本身和(或)药物代谢产物诱发肝脏毒性反应,引起急、慢性肝病,导致机体出现肝硬化、肝细胞萎缩、肝门纤维化等病理表现,严重时可直接导致肝功能衰竭,对人体健康具有强大杀伤力。由于HILI临床表现的非特异性和病理变化的复杂性,为临床精确诊断HILI带来困难^[1]。关于HILI,其临床干预策略仍有待完善,预防HILI的发生成为临床诊疗HILI的有效手段。

作为一种多机制的复杂疾病,学术界关于HILI作用机制的阐述尚不充分。现阶段已证实HILI的发生与氧化应激、CYP450酶系代谢异常、肝脏循环障碍、电解质失衡密切相关。细胞自噬作为机体推陈出新、

维持稳态的重要方式,与HILI的发生存在关联^[2-3]:正常生理下的细胞自噬参与细胞健康和存活的应激过程,如肝细胞的基础自噬对于维持肝细胞稳态具有积极作用;当细胞自噬受到过度刺激或自噬功能缺陷时即可出现肝损伤,引发一系列病理生理改变。尽管有不少研究结果显示,细胞自噬的异常调控是HILI的发生机制之一,但尚未有文献基于细胞自噬的角度系统回顾HILI的发生机制。

本研究就HILI中细胞自噬的双重作用进行综述,基于自噬角度举例相关中草药的肝损伤机理,探讨细胞自噬与HILI发生的可能机制及研究进展,并综合多因素考虑提出HILI的防治策略,以期为HILI的疾病预防及安全用药提供理论依据。

收稿日期:2023-07-11

修回日期:2023-08-31

^{*} 国家自然科学基金委员会青年项目(82204938):基于“毒理证据链”解析八角莲致肝损伤的“证-量-毒”关系与体内毒性传递路径,负责人:刘传鑫。

^{**} 通讯作者:孔娇,博士生,主要研究方向:体质毒理学与糖脂毒理学;刘传鑫,主管药师,博士,硕士研究生导师,主要研究方向:体质毒理学与个体化药学监护。

1 细胞自噬信号通路

生理情况下,低表达的细胞自噬成为细胞抗损伤、抗感染的重要挡箭牌;当细胞面临严重的氧化应激、大量蛋白质聚集、缺氧等环境改变时,自噬水平将明显加强。细胞自噬与多种病理表现密切相关,任何一种自噬分子的异常表达,均有导致自噬通路异常调控诱发疾病的可能。了解细胞自噬信号通路,是实现疾病研究和防治的重要前提。

1.1 自噬过程的启动

细胞自噬信号通路中有多种自噬关联蛋白(Autophagy-related proteins, Atg)共同调控自噬的发生,其中,由FIP200、mAtg13、ULK1或ULK2组成的ULK复合体和Atg1通过接受细胞营养状态信号,控制细胞自噬的启动,并向下游传递信号,诱导Atg蛋白聚集,在细胞自噬中起正向调控的作用^[4]。雷帕霉素靶蛋白(Mammalian target of rapamycin, mTOR)和腺苷酸活化蛋白激酶是自噬诱导反应的重要成分,影响着Atg和溶酶体的生物合成,其同样受到多种上游信息通路的影响,使机体通过对mTOR的调节来控制自噬活性^[5]。Ras信号通道对细胞自噬作用也产生了双重影响,既可以促进自噬的发生,也可表现为抑制。在细胞自噬的启动过程中,还涉及由抗紫外线照射相关基因或hVps34、Atg14L、Beclin-1、Vps15、p150组成的III级PI3K复合物^[6],在自噬早期自噬小体双层膜的形成中具有重要的作用,通过对效应因子的招募,介导囊泡形成和自噬体成核。

1.2 自噬泡的延伸和成熟

Atg5-Atg12共价结合系统在自噬泡的延伸中发挥着关键作用。Atg12在经历了具有泛素样激酶E1和E2的激活后与Atg5形成复合物,并与Atg16非共价结合形成Atg12-Atg5-Atg16,该复合物在LC3-PE结合系统作用下,通过膜加成来实现自噬泡的扩展和延长。

1.3 自噬小体与溶酶体结合

在细胞质中,自噬体形成后将游至微管组织中心^[7],在多种胞吞途径蛋白如Vps34、Beclin-1和Vps35等的调节下与溶酶体融合形成自噬溶酶体,自噬溶酶体借助酸性水解酶降解自噬体的内容物,实现能量和物质的循环再利用。由于P62的降解与自噬体-溶酶体的融合联系密切,现已用P62含量的多少来反映细胞自噬水平高低^[8]。

1.4 其他信号分子及调节通路

三结构域蛋白质(Tripartite motif-containing proteins, TRIMs)家族通常拥有E3泛素连接酶作用,已有资料表明,多个TRIM家族与自噬机制的调节有关,其作用机理主要为调节自噬信息通道、自噬底物受体^[9]。此外,转录因子作为自噬的主要调节剂,在自噬的长期调节中发挥重要作用,且以转录因子EB的作用更为突出^[10]。

近些年来,不少研究发现肝脏内自噬调节的途径还可涉及其他分子机制:lncRNA影响Atg的表达调控以操纵自噬^[11],miRNA通过影响核心自噬途径来调节自噬^[12],具体见图1。

2 自噬与HILI

由于中草药“多组分、多靶点”的药理效应,临床给药中常存在多种毒性成分诱发HILI的可能。随着中西医药物的联用,HILI的致肝损伤机制更为复杂,目前公认的机制包括细胞氧化应激、炎性介质过度释放、线粒体功能障碍、肠道菌群失调等^[13]。事实上,HILI的发生与细胞自噬的异常调控密切相关^[14]。细胞自噬与机体内氧化应激、免疫应答等多种信号通路相互关联,共同构成机体稳态的分子开关,在应激情况下发挥积极作用,但高强度的自噬水平将反杀细胞,诱发HILI。尽管目前仍有许多中草药诱发HILI的机制尚不明确,仍有不少研究发现某些药物基于细胞自噬诱导HILI的机制,见表1。

2.1 自噬减轻HILI

肝脏作为机体重要的代谢和解毒场所,在药物代谢中占据重要地位。利用肝细胞的自噬作用,通过清除错误翻译或折叠的蛋白质、受损的肝细胞而保证肝脏能量供应,是肝细胞生长和自我平衡的重要途径,也是减轻药物毒副作用的有效措施。肝细胞自噬可通过影响机体免疫调节和炎症反应、调节细胞自噬水平来达到护肝效果。IL-37作为炎症反应中重要的细胞因子,可通过影响自噬相关蛋白,特别是通过抑制Beclin-1和LC3BII表达而上调P62和凋亡相关蛋白的水平,发挥护肝作用。与此同时,IL-37还可以通过抑制过度的自噬和细胞凋亡来减轻肝脏缺血再灌注损伤,具体作用机制可能与AMPK/mTOR/ULK1复合物有关^[29]。雷帕霉素诱导的脂肪源性间充质干细胞自噬基于PI3K-AKT等途径明显改善顺铂肝损伤模型的肝

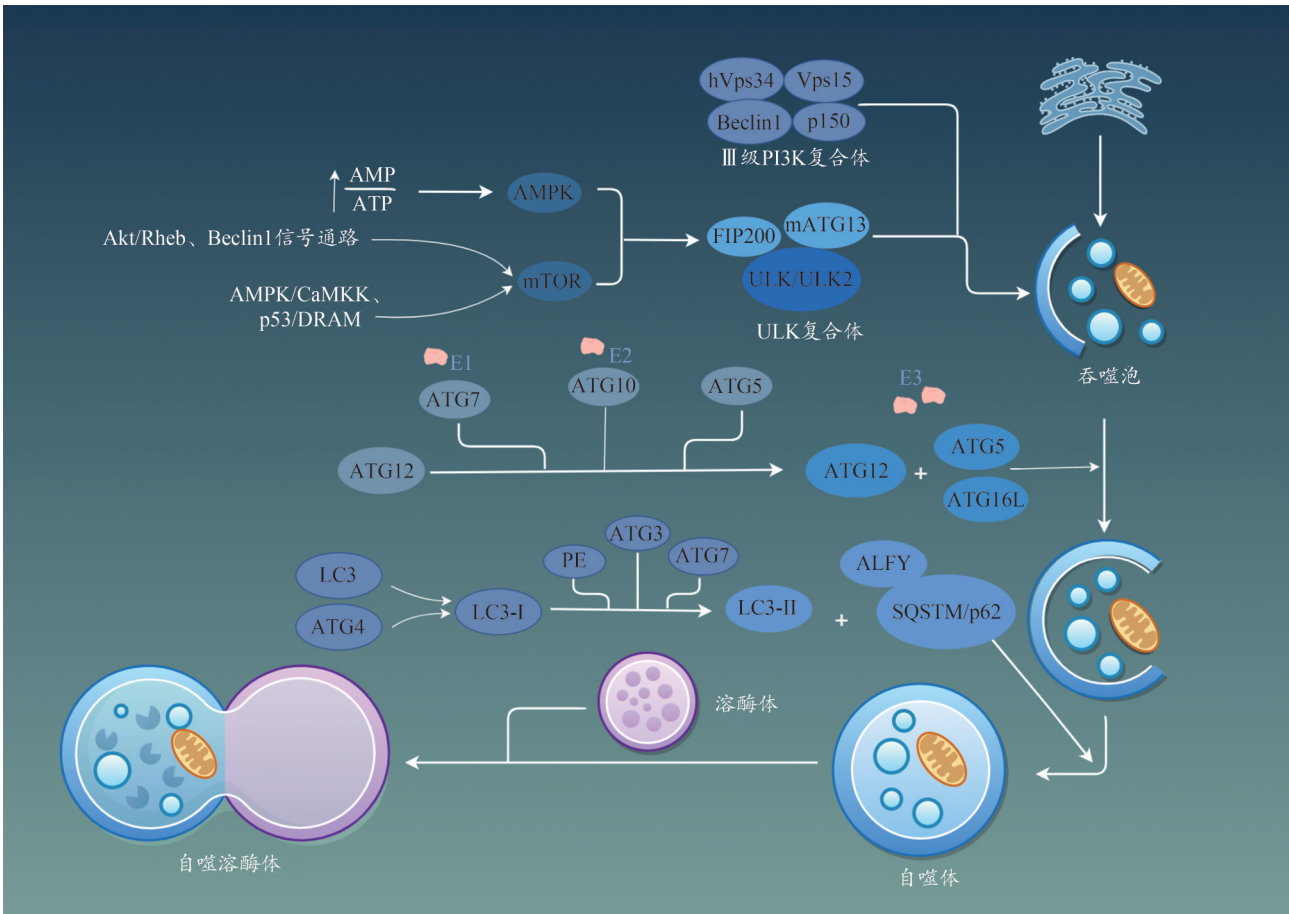


图1 细胞自噬信号通路图(本图由Figdraw 绘制)

表1 与细胞自噬相关的HILI 常见药物

药材/药名	主要毒性成分	自噬相关的毒性机制
八角莲	鬼臼毒素	影响PI3K/Akt/mTOR 和Nrf2/HO1 通路抑制细胞自噬,激活体内氧化应激而引起脏器损伤 ^[15]
雷公藤	雷公藤甲素	上调自噬相关蛋白,通过过氧化损伤及自噬过度激活介导肝细胞损伤 ^[16]
	雷公藤内酯	通过PI3K/AKT、MAPK、TNF-α 和p53 信号通路影响细胞自噬水平,诱导肝细胞凋亡 ^[17] ;使Beclin-1、Atg5 在内的自噬相关基因的表达失调 ^[18]
柴胡	柴胡皂苷A	通过PERK/eIF2α/ATF4/CHOP 通路、IRE1-TRAF2 通路、ATF6 通路和AMPK/mTOR 通路实现体外诱导L-02 细胞中的ER 应激,促进毒性自噬,诱导细胞凋亡 ^[19]
	柴胡皂苷D	通过上调LC3-II 表达并诱导自噬体形成,抑制肝星状细胞的增殖而诱导细胞凋亡 ^[20]
川楝子	川楝子素	通过促进促炎因子如IL-1f、p65 基因的表达,上调自噬相关的Beclin-1、Atg3、LC3 引起炎症与自噬相互作用 ^[21]
大黄	大黄酸	诱导细胞凋亡和自噬 ^[22]
芫花	芫花水提物	实验动物体内Beclin-1、Atg3 表达水平下调,意味着其诱导的肝损伤与细胞自噬相关 ^[23]
麻黄	麻黄碱	促进线粒体氧化应激,过度的线粒体自噬诱发肝损伤 ^[24]
仙灵骨葆胶囊	补骨脂素、异巴伐菌素、巴伐狄素	影响PI3K/mTOR 信号通路而抑制自噬 ^[25]
何首乌	白藜芦醇	呈现剂量依赖的方式促进L-02 细胞的凋亡,并伴随线粒体自噬 ^[26]
	大黄素	影响P62、LC3-II、Beclin-1 的表达而削弱自噬功能 ^[27] ,抑制PI3K/AKT/mTOR 信号通路促进L-02 细胞的凋亡 ^[28]

功能参数和组织病理学图像^[30]。此外,调节肝细胞自噬处于正常水平可以有效对抗药物肝损伤。TNF-α 和曲伐沙星(Trovafloxacin,TVX)共同处理HepG2 细胞能够维持p70S6K 活性抑制保护性自噬,增强TVX 诱

导的细胞毒性。siRNA 和雷帕霉素可抑制 p70S6K 的磷酸化,从而恢复 TNF- α 抑制的自噬,阻止其对 TVX 诱导的肝毒性的协同作用^[31]。通过加强对细胞自噬的调控,使其处于正常水平而达到护肝效果。

2.2 自噬介导 HILI

自噬介导的 HILI 与氧化应激、线粒体功能障碍和炎性物质释放等多种机制相关,其中,线粒体功能障碍是 HILI 的重要机制之一,线粒体自噬通量的减弱可加重线粒体功能的障碍而进一步损伤肝细胞,其机制与 PINK1/Parkin 通路线粒体自噬有关^[32]。袁媛媛^[26]通过研究何首乌中活性成分的肝毒性和细胞凋亡机制,证明何首乌活性成分大黄素和白藜芦醇可能通过抑制 PI3K 等抑制凋亡蛋白的表达而对 L-02 细胞产生毒性,与此同时,白藜芦醇干预下 L-02 细胞线粒体内出现典型的自噬表现如自噬小体的出现,证明这种肝毒性作用以线粒体自噬为主要机制。黄艳^[33]等人将竹叶花椒甲醇提取物作用于大鼠肝组织来源的 BRL 3A 细胞后发现 BRL 3A 细胞自噬水平受到明显抑制,这种抑制与 mTOR/ULK1 通路的激活诱导 ROS 蓄积造成肝毒性有关。雷公藤甲素具有良好的抗肿瘤作用,但其引起的肝毒性限制了临床应用。药理研究得出,雷公藤甲素可通过 PI3K/AKT、MAPK 等多种信号通路诱导自噬的发生,并引发肝细胞凋亡^[17]。

由于细胞内细胞自噬作用各有差异,细胞自噬在 HILI 的发生中具有双重意义,如自噬可抑制氧化应激水平减少肝损伤的发生,而内质网应激可通过对自噬的激活诱发肝损伤的发生。细胞自噬在 HILI 中作用机制的研究日趋明确,基于细胞自噬的双重作用,有效防治 HILI 将成为一种可能。

3 HILI 的预防策略

针对 HILI 的预防依赖于中医临床知识和 HILI 临床指征的掌握,同时加强临床药物的风险控制和临床用药的日常管理,监测中药材的来源及质量,强化药物的临床试验管理,实现未病防患,既病防变^[34]。

3.1 强化临床辨证

中医基础理论,是中医之魂,是因势利导的基本原则,借助四诊、八纲、气血津液等方法辨别疾病的证候,实现对证下药。一种疾病可有不同的证候,就感冒而言,可分为风寒感冒、风热感冒、暑湿感冒、气虚感冒、阴虚感冒 5 种,而方随证出,因此也有“异病同

治”或“同病异治”的辨证特点。然而,这种复杂而灵活的辨证过程,在中医基础知识薄弱及现代医学模式的冲突之下成为诱发 HILI 的重要因素。热者温之则更热、虚者泻之则更虚,药不对证即可引发各种不良反应^[35]。中药是在中医理论基础指导之下实现疾病防治的药物,夯实中医知识,以整体观念和辨证论治为基础,病证结合,严格掌握“十八反”“十九畏”,是有效防治 HILI 的重要前提^[36]。

3.2 掌握临床指征

掌握 HILI 的临床指征,是实现早发现、早诊断的重要前提。HILI 所呈现出来的表型与其他肝病类似,其诊断方式依赖于辅助检查和病因学判断,辅助检查包括实验室检查、病理学检查、影像学检查、因果分析,首要征象即肝酶的升高^[37]。当患者出现腹部不适、黄疸等现象时应提高警惕,综合多方面因素进行判断:通过查明用药和停药时间、症状出现时间,建立可疑病因的时间关系^[38]。尽管 ALT、AST 等肝酶含量的变化已成为 HILI 的传统诊断方法,但其敏感性、特异性受限制,寻找更精准灵敏的生物标志物为 HILI 的诊疗提出新方向。以 miR-122 为代表的 microRNA 在肝脏中的高度特异性表达,使其成为早期 HILI 诊断的研究热点^[39]。现已被证明具有诊断 HILI 价值的生物标志物还包括 APAP 暴露下结构差异性表达的鞘脂类物质^[40],肝脏中含量高的中间丝蛋白细胞角蛋白-18^[41]等,但综合看来,能否将这些标志物运用于临床,还需更多的前瞻性研究支持。

3.3 加强风险控制

当患者出现 HILI 相关的风险信号时,应立即停药,进行严密观察并开展辅助检查。一旦确诊,应依据严重程度明确监测指标和监测周期。由于中药所引发的肝损伤在临床表现上隐匿性更强,需坚持长期随访。此外,加强药物临床试验管理对 HILI 的防治至关重要,药物上市前研究和上市后再评价等关键步骤的风险把控不可忽视,应及时调整研究策略及研究者手册,并将知情同意书充分告知试验对象。针对 HILI 较重者或风险大于收益的情况,应及时中止临床试验并给予治疗 and 安全性监测。基于药物上市后使用人群扩大,药物上市后再评价是确保安全用药必不可少的途径,强化质量安全性控制并给予防控措施,针对上市后 HILI 发病的可能情况或严重程度,适时调整说明书、限制使用或撤销生产,为人民群众的用药安全

保驾护航^[37]。

3.4 规范日常管理

农药在中草药上的残留,是引发健康危害不可忽视的因素^[42]。内吸性药物对中草药植物上的隐匿害虫具有明显的杀虫效果而被广泛使用,但其清洗不易、农药残留的问题为中草药安全构成威胁,加强中草药材、饮片质量管理必不可少。强化中草药的质量管理,需贯彻于中草药的培育过程,规范化使用农药,明确质量控制技术要求,从技术、人员、环境等多方面实现规范性生产、安全性生产。

药物的给药方式和给药剂量通过影响机体血药浓度而对健康带来负面作用。事实证明,内源性 HILI 的发生存在剂量反应关系^[43]。同时,不同药物的联用可增加肝毒性的发生率,合理配伍、规范用药是防治 HILI 的关键。随着人工智能的发展,基于化学结构的人工智能方法,将实现对药物肝毒性化合物的准确筛选,为预防 HILI 提供可能^[44]。

此外,个体对药物毒性作用的易感性分布不同,应加强特殊人群管理,实现个性化防治,确保特殊群体如孕产妇、老年人、儿童及其他患有危重疾病人群的用药安全,强化对特殊群体临床用药的日常管理和健康监测。

4 HILI 的治疗策略

4.1 一般处理

针对 HILI,一旦确诊即应停用可疑药物,并进行系统的风险评估以及肝功能监测。在临床试验中试验对象出现 HILI 表型时,应积极采取风险管理措施,寻找病因,及时揭盲,给予停药处理,第一时间向上级汇报。然而,仍有众多 HILI 患者在确诊停药后出现先天免疫系统的激活,在细胞因子的驱动下诱发获得性免疫反应^[45],为此,根据个体因素给予药物干预,阻止病情进一步发展成为防治 HILI 必不可少的环节。

4.2 药物治疗

4.2.1 药物解毒

药物干预仍是防治 HILI 的重要手段,用药的策略涉及保护肝功能、清除自由基、恢复肝酶含量、免疫调节等,依据 HILI 的临床分型,常可将药物分为保肝药物、免疫抑制剂、抗胆碱药物、特异性药物^[46],包括针对氟米特引发 HILI 的消胆胺、丙戊酸诱导 HILI 的左旋肉碱^[47]。目前,对乙酰氨基酚(Acetaminophen, APAP)已

成为临床上药源性肝损害最常见的病因,现阶段临床上有效治疗 APAP 诱发肝损害的特异性药物为 N-乙酰半胱氨酸,其作用机制与细胞内谷胱甘肽含量的维持密切相关,然而,该药物对非 APAP 相关的儿童药物肝损伤的治疗效果欠佳^[48],研究疗效更佳的药物势在必行。事实上,已有众多中药的保肝护肝作用受到肯定,在防治 HILI 上的应用前景日益凸显。此外,自噬在生命活动中表现出来的双重作用,为 HILI 的防治提供了可能。以细胞自噬为落脚点,探讨 HILI 的防治策略仍为医学界的研究热点。

(1)人参皂苷:作为人参的主要活性物质,人参皂苷具有优良的抗肿瘤、抗血管生成、抗炎等活性,关于人参皂苷的药理作用仍在不断被挖掘,已有研究证明人参皂苷在诱导细胞自噬实现肝保护中发挥重要作用。Qu 等^[49]建立了 APAP 诱导的肝损伤小鼠模型,肯定了人参皂苷-Rk3 对肝毒性的保护作用,进一步研究发现小鼠体内自噬标志物如 Atg5、P62 蛋白等明显下调,证明这种肝保护机制以激活细胞自噬为基础。基于细胞自噬研究人参皂苷对 HILI 的作用不仅局限于 APAP 诱导的肝损伤小鼠模型中,Zhao 等^[50]通过研究发现人参皂苷-Rg1 对四氯化碳(Carbon tetrachloride, CCl_4)诱导的肝损伤小鼠模型也有显著的保护作用,在人参皂苷-Rg1 干预后小鼠体内自噬水平明显增强,并导致 NF- κ B、NLRP3 炎症小体、半胱天冬酶 3 和 IL-18 显著降低,提示这种肝损伤保护机制与 NF- κ B/NLRP3 炎症小体信号通路相关联。人参皂苷可通过调节自噬相关通路激活肝细胞自噬,从而达到预防 HILI 的作用。

(2)虾青素:虾青素(Astaxanthin, ASX)作为一种类胡萝卜素,主要由海鲜、微藻等海洋生物代谢而成。作为一种超级抗氧化剂,ASX 不仅具有良好的保健作用和营养价值,还可被广泛运用于皮肤护理和皮肤病、心血管疾病、肿瘤的治疗^[51]。ASX 可通过多途径改善肝脏功能,且这种机制与细胞自噬密切相关。Jia 等^[52]研究发现,ASX 可直接作用于过氧化物酶体增殖物激活不同亚型受体发挥护肝的作用,并增强细胞的自噬功能,促进脂滴分解,防止肝脏发生脂肪变性。此外,ASX 还可以通过下调 JNK/p-JNK 信号通路影响细胞的自噬水平,减少刀豆蛋白 A 诱导的自身免疫性肝损伤^[53]。一项研究发现,在施加 ASX 干预后,由 APAP 介导的肝损伤模型中 Nrf2/HO-1 途径呈现阳性

表2 基于自噬防治 HILI 的药物相关信息

药物名称	与自噬相关的肝损伤模型	作用机制
虾青素	APAP 过量诱导的肝毒性小鼠模型	激活 Nrf2/HO-1 途径的同时增强自噬,抑制铁死亡 ^[57]
银黄口服液		激活 Nrf2 信号通路和自噬,调节自噬相关基因 Beclin-1 等和相关蛋白水平恢复基础水平 ^[58]
阿魏酸		显著逆转线粒体膜电位的下降,上调 AMPK 磷酸化促进肝细胞自噬 ^[59]
紫锥菊多糖		主要通过帕金依赖性自噬发挥肝保护作用 ^[60]
漆黄素		增加 Atg5 表达,促进自噬并抑制炎症小体活化 ^[61]
脂联素		通过 AMPK 依赖性激活 Unc-51 样激酶 1 诱导线粒体自噬 ^[62]
甘草素	三氧化二砷诱导的肝毒性小鼠模型	抗氧化和抗炎作用,增强小鼠 PI3K/AKT/mTOR 信号通路介导的自噬 ^[63]
精胺	硫代乙酰胺诱导的肝损伤小鼠模型	介导自噬抑制库普弗细胞 M1 极化,上调 Atg5 表达促进肝脏库普弗的 M2 极化 ^[64]

激活,受 APAP 攻击的肝细胞内自噬、铁死亡、氧化应激水平发生改变,改善 HILI。ASX 表现出来的护肝作用,将在 HILI 的防治中发挥重要作用。

(3)五味子提取物:五味子作为一种药食同源的中草药植物,其营养价值和药理作用备受关注。从五味子中提取出来的成分可包括三萜、多糖在内的 300 多种活性物质,在免疫调节、肿瘤治疗、肝肾保护上具有明显疗效^[54],其中的五指片(Wuzhi tablet,WZ)已被用于防治 HILI 效果研究中,Fan 等^[55]利用 APAP 诱导建立肝损伤小鼠模型,给予 WZ 干预后发现,由 APAP 过量导致小鼠体内上调的 p53 和 p21 水平在干预实施后 48 h 可实现绝对的逆转,与已被批准防治 APAP 诱导肝损伤的药物 N-乙酰半胱氨酸相比,WZ 干预后 4 h 的肝保护作用更强。Zhao 等^[56]通过研究证明,五味子的另一种提取物五味子精油也可通过下调 p62 蛋白的途径激活细胞自噬发挥肝保护的作用。总而言之,五味子提取物保护肝损伤的作用值得被肯定,其在 HILI 的防治上具有良好的应用前景,但其药效仍需更多的研究加以证明。基于细胞自噬水平的调节防治 HILI 的措施及机制可见表 2。

4.2.2 炮制减毒

中药成分复杂,存在不同毒性成分,中药的安全与减毒成为临床用药的关键。中药炮制,是实现增效减毒的重要措施。中药的炮制方式需以药物中毒机制为依据:乌头碱类中药中毒可影响神经系统,并继发性影响心血管系统,其炮制方式采用水炮法;皂苷类药物如知母,中毒剂量时通过刺激黏膜、抑制呼吸,甚至影响神经系统,通过与醋酸反应改变药物成分,实现减毒作用;秋水仙素类中药如山慈菇、光慈菇通过影响细胞周期,损伤遗传物质,造成消化系统和泌尿系统损害,但基于秋水仙素的水溶性,因此采用水处理法实现减毒效果^[65]。

4.2.3 配伍减毒

中药配伍减毒理念成为中医临床防治 HILI 的指导原则,通过配伍发挥相反相制、相辅相成的综合效果,实现辨证论治。

Zhang 等^[66]通过研究发现地黄提取物“辛醇”可防治雷公藤内酯引发的肝毒性,其机制与 PERK-ATF4-CHOP 信号通路密切相关,通过抑制肝细胞自噬水平实现保肝作用。该实验中,5-20 μg·L⁻¹雷公藤内酯干预下自噬蛋白如 Beclin-1 和 LC3 的表达明显增加,P62 的表达下降,诱导自噬体的不断产生,而 40 μg·L⁻¹的辛醇则可以通过抑制过度表达的自噬而逆转雷公藤内酯导致的自噬水平、肝功能指标和凋亡蛋白表达的变化,二者配伍,为防治雷公藤内酯诱导的 HILI 提供可能。周学平等^[67]研究证明毒性剂量的雷公藤甲素通过诱导自噬过度表达而引发 HILI,复方配伍生地、三七时即可减轻细胞自噬水平,发挥减毒作用;配伍的作用机制还与核转录因子 Nrf1/2 的表达密切相关,通过影响线粒体转录因子 A 和细胞色素 C 降低线粒体损伤^[68]。有研究发现,五味子或地黄与补骨脂配伍时可降低补骨脂诱发的 HILI,但其作用机制仍有待挖掘^[69]。基于自噬角度探讨中药配伍,多层次、多靶点发挥增效减毒作用,为 HILI 的防治提供思路,但随药物剂型的改变探讨配伍减毒方案的研究仍需深入,不同药物剂量下的药效变化仍需更多的研究加以证明。

4.3 对症治疗

针对血流动力学稳定、病情轻者以非手术治疗为主,当肝损伤程度严重时,在给予药物干预的情况下应依据病情需要进行对症治疗。肝脏严重损伤时,在条件允许下可考虑肝移植。无肝移植手术史的 HILI 患者在进行大规模血浆置换后病情得到明显改善,提示血浆置换术可能作为肝移植无法进行时的另一种

救补方式。此外,肝损伤患者常因肝脏代谢异常而伴有营养不良现象,应适时适量给予营养支持^[46]。

5 总结与展望

5.1 细胞自噬与中药源性肝损伤研究

细胞自噬通过选择性清除受损的细胞器及其他有毒有害物质,保护自身免受危害,在细胞正常生命周期中扮演重要角色。细胞自噬与HILI的发生发展联系密切,药物既可以通过肝细胞自噬的方式进行代谢,也可通过改变肝细胞的自噬水平,诱导肝损伤的发生。细胞自噬介导HILI的作用机制与自噬信号通路异常调节和自噬相关基因异常表达相关,如通过PI3K/AKT、MAPK、TNF- α 和p53信号通路影响细胞自噬水平;或是诱导Beclin-1、Atg5在内的自噬相关基因的表达失调;或是影响IRE1-TRAF2通路、ATF6通路和AMPK/mTOR通路而实现体外诱导内质网应激引发肝损伤。尽管不同药物引发HILI的机制不尽相同,但p62、LC3、Beclin-1是信号通路中最著名的微管蛋白,其中,Beclin-1已成为细胞自噬中最常见的标志物之一,该物质的异常表达,在细胞自噬的诱导中不可忽视。

5.2 中药源性肝损伤的防治

HILI在潜伏期仅表现为ALT、AST等生化指标的异常升高,可不伴有明显症状,发病期临床表型与众多肝病类似,临床关于HILI的诊断依赖于排除法,准确全面追溯可疑用药史、排除其他病因所致的肝损伤是诊断HILI的关键。如何精准提高诊断手段,实现早期防治HILI是保障临床安全用药的重要内容。关于miR-122、鞘脂类物质、中间丝蛋白细胞角蛋白-18等潜在生物标志物已成为早期HILI诊断的研究热点,由于该类研究尚缺乏循证医学研究,是否能将这些标志

物运用于临床,还有待深入挖掘。

预防HILI需要临床工作者严格掌握临床指征,并加强风险控制。针对HILI的治疗,一般处理为寻找病因,根据临床特征和个人体质及时停用可疑药物,必要时给予药物干预和对症处理。值得注意的是,现已被美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于防治药物肝损害的只有N-乙酰半胱氨酸,且使用受限,主要用于对抗APAP诱导的肝损害,研发新药物势在必行。中医文化作为我国瑰宝广受关注,中药治疗效果逐渐受肯定。中药在激活细胞自噬基础上实现护肝保肝的作用引发学术界关注,五味子提取物、虾青素、外源性胸腺素 β 4等中草药可基于分子水平调节自噬信号通路发挥防治HILI的效果,一度受到学术界的肯定。此外,中草药通过炮制、配伍方式可达到相反相制、相辅相成的综合效果,使其成为预防HILI的有效措施。

5.3 建议与展望

本文综述了细胞自噬调控的分子机制,并从细胞自噬的角度出发,重点对已有的致肝损伤中药进行总结分析的同时归纳防治HILI的药物及作用原理,为探讨HILI的有效防治方法提供一定理论依据及研究方向。通过文献的整理发现,有众多生物分子具有精确诊断HILI的潜力,但尚缺乏更多前瞻性研究的支持。此外,关于HILI防治药物及其效果的研究大部分局限于APAP诱导的肝损伤小鼠模型,对其他药物诱发肝损伤模型的研究较少;同时,这些药物作用机制的研究局限于动物身上,缺乏临床研究数据。尽管这些药物有望被开发为防治HILI的有效特定药或优良候选分子,但仍需要充分的循证医学证明其在临床用药中的准确性和可行性。值得肯定的是,通过调控细胞自噬的表达,治疗中药源性肝损伤将成为可能。

参考文献

- Isaacson M, Babich M. Drug-induced liver injury resources and reporting for the clinician. *Clin Liver Dis*, 2020, 24(1):131-139.
- Jaeschke H, Akapko J Y, Umbaugh D S, et al. Novel therapeutic approaches against acetaminophen-induced liver injury and acute liver failure. *Toxicol Sci*, 2020, 174(2):159-167.
- Suh J I. Drug-induced liver injury. *Yeungnam Univ J Med*, 2020, 37(1): 2-12.
- Guo H, Sun J, Li D, et al. Shikonin attenuates acetaminophen-induced acute liver injury via inhibition of oxidative stress and inflammation. *Biomedicine Pharmacother*, 2019, 112:108704.
- Kim Y C, Guan K L. mTOR: a pharmacologic target for autophagy regulation. *J Clin Invest*, 2015, 125(1):25-32.
- Wang S, Li J, Du Y, et al. The Class I PI3K inhibitor S14161 induces autophagy in malignant blood cells by modulating the Beclin 1/Vps34 complex. *J Pharmacol Sci*, 2017, 134(4):197-202.
- 张效云, 李琦. 细胞自噬与肺纤维化. *生理科学进展*, 2015, 46(4): 314-316.
- Islam M A, Sooro M A, Zhang P. Autophagic regulation of p62 is

- critical for cancer therapy. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5):1405.
- 9 李玉琴, 胡嘉, 王琳. TRIM 家族蛋白质在自噬调控中的作用. 中国生物化学与分子生物学报, 2021, 37(10):1305–1313.
 - 10 Raben N, Puertollano R. TFEB and TFE3: linking lysosomes to cellular adaptation to stress. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2016, 32:255–278.
 - 11 Xiong H, Ni Z, He J, *et al.* LncRNA HULC triggers autophagy via stabilizing Sirt1 and attenuates the chemosensitivity of HCC cells. *Oncogene*, 2017, 36(25):3528–3540.
 - 12 Zhao Y, Wang Z, Zhang W, *et al.* MicroRNAs play an essential role in autophagy regulation in various disease phenotypes. *BioFactors*, 2019, 45(6):844–856.
 - 13 罗琼, 杨涛, 刘成海. 中草药药源性肝损伤的研究难点. 中西医结合肝病杂志, 2020, 30(1):17–19, 23.
 - 14 张净, 刘俏, 尹圆圆, 等. 自噬在药物性肝损伤中的作用研究进展. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(2):139–145.
 - 15 Kong J, Kui H, Tian Y, *et al.* Nephrotoxicity assessment of podophyllotoxin-induced rats by regulating PI3K/Akt/mTOR–Nrf2/HO1 pathway in view of toxicological evidence chain (TEC) concept. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023;264:115392.
 - 16 刘泽洲, 许可嘉, 张天娇, 等. 雷公藤甲素诱导小鼠急性肝损伤的形态学研究. 现代生物医学进展, 2015, 15(17):3207–3211.
 - 17 Zhao J, Xie C, Wang K, *et al.* Comprehensive analysis of transcriptomics and metabolomics to understand triptolide-induced liver injury in mice. *Toxicol Lett*, 2020, 333:290–302.
 - 18 Li C, Zhang C, Zhu C, *et al.* Inflammation aggravated the hepatotoxicity of triptolide by oxidative stress, lipid metabolism disorder, autophagy, and apoptosis in zebrafish. *Front Pharmacol*, 2022, 13:949312.
 - 19 Wang Y F, Ma RX, Zou B, *et al.* Endoplasmic reticulum stress regulates autophagic response that is involved in Saikosaponin a-induced liver cell damage. *Toxicol In Vitro*, 2023, 88:105534.
 - 20 Jiang H, Liu J, Zhang K, *et al.* Saikosaponin D inhibits the proliferation and promotes the apoptosis of rat hepatic stellate cells by inducing autophagosome formation. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021:5451758.
 - 21 Sun M, Liu Q, Liang Q, *et al.* Toosendanin triggered hepatotoxicity in zebrafish via inflammation, autophagy, and apoptosis pathways. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2021, 250:109171.
 - 22 Cheng Y, Zhang H, Qu L, *et al.* Identification of Rhein as the metabolite responsible for toxicity of rhubarb anthraquinones. *Food Chem*, 2020, 331:127363.
 - 23 韩沁, 邹迪新, 李二文, 等. 芫花水提取物对斑马鱼成鱼及SD大鼠肝毒性的相似性评价及作用机制初探. 世界中医药, 2020, 15(13):1872–1878.
 - 24 Lee A Y, Jang Y, Hong S H, *et al.* Ephedrine-induced mitophagy via oxidative stress in human hepatic stellate cells. *J Toxicol Sci*, 2017, 42(4):461–473.
 - 25 Piao S, Lin H, Tao X, *et al.* Mitochondrial toxicants in Xian-Ling-Gu-Bao induce liver injury by regulating the PI3K/mTOR signaling pathway: an *in vitro* study. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1):317.
 - 26 袁媛媛. 何首乌活性成分的肝毒性机制研究. 广州: 广州医科大学硕士学位论文, 2018.
 - 27 Li Y, Shen F, Bao Y, *et al.* Apoptotic effects of Rhein through the mitochondrial pathways, two death receptor pathways, and reducing autophagy in human liver L02 cells. *Environ Toxicol*, 2019, 34(12):1292–1302.
 - 28 Zheng X Y, Yang S M, Zhang R, *et al.* Emodin-induced autophagy against cell apoptosis through the PI3K/AKT/mTOR pathway in human hepatocytes. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13:3171–3180.
 - 29 陈青松. IL37通过 AMPK/ULK1/mTOR 信号通路抑制自噬与凋亡减轻肝缺血再灌注损伤的研究. 重庆: 重庆医科大学博士学位论文, 2021.
 - 30 El Nashar EM, Alghamdi MA, Alasmari WA, *et al.* Autophagy Promotes the Survival of Adipose Mesenchymal Stem/Stromal Cells and Enhances Their Therapeutic Effects in Cisplatin-Induced Liver Injury via Modulating TGF- β 1/Smad and PI3K/AKT Signaling Pathways. *Cells*, 2021 Sep 18;10(9):2475.
 - 31 Ahn JH, Jegal H, Choi MS, *et al.* TNF α enhances trovafloxacin-induced *in vitro* hepatotoxicity by inhibiting protective autophagy. *Toxicol Lett*, 2021;342:73–84.
 - 32 Wang H, Ni H M, Chao X, *et al.* Double deletion of PINK1 and Parkin impairs hepatic mitophagy and exacerbates acetaminophen-induced liver injury in mice. *Redox Biol*, 2019, 22:101148.
 - 33 黄艳, 蒋佳洛, 杨南楠, 等. 竹叶花椒提取物抑制大鼠肝细胞 BRL3A 自噬而诱导 ROS 累积. 医药导报, 2023, 42(10):1436–1442.
 - 34 刘传鑫, 孔娇. 体质毒理学: 中药安全性评价的新方向. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25(12):3776–3784.
 - 35 夏凯. 基于我院近 5 年临床病案数据库的急性中草药肝损伤流行病学调查及预后随访. 成都: 成都中医药大学硕士学位论文, 2016.
 - 36 庞立健, 吕晓东, 石岩, 等. 基于中医辨证论治理论中药毒性科研思路与方法. 第四届仁心雕龙学术论坛暨福建省中医药学会治未病分会 2018 学术年会论文集, 2018:411–415.
 - 37 国家药品监督管理局. 中药药源性肝损伤临床评价技术指导原则. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(7):1403–1409.
 - 38 Andrade R J, Robles-Díaz M. Diagnostic and prognostic assessment of suspected drug-induced liver injury in clinical practice. *Liver Int*, 2020, 40(1):6–17.
 - 39 Liu Y, Li P, Liu L, *et al.* The diagnostic role of miR-122 in drug-induced liver injury: a systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 2018, 97(49):e13478.
 - 40 Li L, Wang H, Jones JW. Sphingolipid metabolism as a marker of hepatotoxicity in drug-induced liver injury. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2020, 151:106484.
 - 41 Korver S, Bowen J, Pearson K, *et al.* The application of cytokeratin-18 as a biomarker for drug-induced liver injury. *Arch Toxicol*, 2021, 95(11):3435–3448.
 - 42 任理雪, 邓高琼, 龙婉君, 等. 中药材中常见农药残留及其研究进展. 中国中药杂志, 2022, 47(11):2899–2908.

- 43 Li X, Tang J, Mao Y. Incidence and risk factors of drug-induced liver injury. *Liver Int*, 2022, 42(9):1999–2014.
- 44 Chen Z, Zhao M, You L, *et al.* Developing an artificial intelligence method for screening hepatotoxic compounds in traditional Chinese medicine and Western medicine combination. *Chin Med*, 2022, 17(1):58.
- 45 Mosedale M, Watkins P B. Drug-induced liver injury: advances in mechanistic understanding that will inform risk management. *Clin Pharmacol Ther*, 2017, 101(4):469–480.
- 46 Li M, Luo Q, Tao Y, *et al.* Pharmacotherapies for drug-induced liver injury: a current literature review. *Front Pharmacol*, 2021, 12:806249.
- 47 于艳卉, 江锋, 薛婧, 等. 2021 APASL 药物性肝损伤共识指南解读. 中西医结合肝病杂志, 2021, 31(8):766–768.
- 48 Squires R H, Dhawan A, Alonso E, *et al.* Intravenous N-acetylcysteine in pediatric patients with nonacetaminophen acute liver failure: a placebo-controlled clinical trial. *Hepatology*, 2013, 57(4):1542–1549.
- 49 Qu L, Fu R, Ma X, *et al.* Hepatoprotective effects of ginsenoside Rk3 in acetaminophen-induced liver injury in mice by activation of autophagy. *Food Funct*, 2021, 12(19):9128–9140.
- 50 Zhao J, He B, Zhang S, *et al.* Ginsenoside Rg1 alleviates acute liver injury through the induction of autophagy and suppressing NF- κ B/NLRP3 inflammasome signaling pathway. *Int J Med Sci*, 2021, 18(6):1382–1389.
- 51 Kumar S, Kumar R, Diksha, *et al.* Astaxanthin: a super antioxidant from microalgae and its therapeutic potential. *J Basic Microbiol*, 2022, 62(9):1064–1082.
- 52 Jia Y, Wu C, Kim J, *et al.* Astaxanthin reduces hepatic lipid accumulations in high-fat-fed C57BL/6J mice via activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α and inhibition of PPAR γ and Akt. *J Nutr Biochem*, 2016, 28:9–18.
- 53 Li J, Xia Y, Liu T, *et al.* Protective effects of astaxanthin on ConA-induced autoimmune hepatitis by the JNK/p-JNK pathway-mediated inhibition of autophagy and apoptosis. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0120440.
- 54 Huang S, Zhang D, Li Y, *et al.* *Schisandra sphenanthera*: a comprehensive review of its botany, phytochemistry, pharmacology, and clinical applications. *Am J Chin Med*, 2021, 49(7):1577–1622.
- 55 Fan X, Chen P, Jiang Y, *et al.* Therapeutic efficacy of Wuzhi Tablet (*Schisandra sphenanthera* Extract) on acetaminophen-induced hepatotoxicity through a mechanism distinct from N-acetylcysteine. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(3):317–324.
- 56 Zhao J, Ding K, Hou M, *et al.* *Schisandra chinensis* essential oil attenuates acetaminophen-induced liver injury through alleviating oxidative stress and activating autophagy. *Pharm Biol*, 2022, 60(1):958–967.
- 57 Cai X, Hua S, Deng J, *et al.* Astaxanthin activated the Nrf2/HO-1 pathway to enhance autophagy and inhibit ferroptosis, ameliorating acetaminophen-induced liver injury. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14(38):42887–42903.
- 58 He Y M, Shen X L, Guo Y N, *et al.* Yinhuang oral liquid protects acetaminophen-induced acute liver injury by regulating the activation of autophagy and Nrf2 signaling. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 244:114073.
- 59 Wu J, Zhou F, Fan G, *et al.* Ferulic acid ameliorates acetaminophen-induced acute liver injury by promoting AMPK-mediated protective autophagy. *IUBMB Life*, 2022, 74(9):880–895.
- 60 Yu T, He Y, Chen H, *et al.* Polysaccharide from *Echinacea purpurea* plant ameliorates oxidative stress-induced liver injury by promoting Parkin-dependent autophagy. *Phytomedicine*, 2022, 104:154311.
- 61 Zhang J, Zhao L, Hu C, *et al.* Fisetin prevents acetaminophen-induced liver injury by promoting autophagy. *Front Pharmacol*, 2020, 11:162.
- 62 Lin Z, Wu F, Lin S, *et al.* Adiponectin protects against acetaminophen-induced mitochondrial dysfunction and acute liver injury by promoting autophagy in mice. *J Hepatol*, 2014, 61(4):825–831.
- 63 Zhang M, Xue Y, Zheng B, *et al.* Liquiritigenin protects against arsenic trioxide-induced liver injury by inhibiting oxidative stress and enhancing mTOR-mediated autophagy. *Biomedicine Pharmacother*, 2021, 143:112167.
- 64 Zhou S, Gu J, Liu R, *et al.* Spermine alleviates acute liver injury by inhibiting liver-resident macrophage pro-inflammatory response through ATG5-dependent autophagy. *Front Immunol*, 2018, 9:948.
- 65 王晓梅, 李云鹤. 观察中药各类毒性成分的中毒机制及其炮制减毒原理. 中国实用医药, 2016, 11(14):265–266.
- 66 Zhang L, Li C, Fu L, *et al.* Protection of catalpol against triptolide-induced hepatotoxicity by inhibiting excessive autophagy via the PERK-ATF4-CHOP pathway. *PeerJ*, 2022, 10:e12759.
- 67 周学平, 周玲玲, 朱华旭, 等. 从物质-代谢-毒性关联视角多维度解析雷公藤复方配伍“异类相制”减轻肝损伤机制. 南京中医药大学学报, 2020, 36(6):795–798.
- 68 Zhou L, Zhou C, Feng Z, *et al.* Triptolide-induced hepatotoxicity can be alleviated when combined with *Panax notoginseng* saponins and Catapol. *J Ethnopharmacol*, 2018, 214:232–239.
- 69 张婧茜. 中药补骨脂致人正常肝细胞 HL-7702 损伤机制及其药对配伍减毒研究. 济南: 山东中医药大学硕士学位论文, 2022.

Research Progress of the Dual Role of Autophagy in Herb-Induced Liver Injury and its Prevention and Treatment Strategies

ZHANG Tingping¹, LI Mengyu², GU Chunyu², HU Jingqi², KONG Jiao³, LIU Chuanxin¹

(1. Henan Key Laboratory of Rare Diseases, Endocrinology and Metabolism Center, the First Affiliated Hospital, College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang Key Laboratory of Clinical Multi-omics and Translational Medicine, Luoyang 471003, China ; 2. School of Chinese Materia Medica, Beijing 102488, China ; 3. Institute of Drug Metabolism and Drug Analysis, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Objective This article systematically reviews the interaction between autophagy and herb-induced liver injury, and it elucidates the mechanism of liver injury. Also, it summarizes the control strategies of herb-induced liver injury. Methods Based on the retrieval of CNKI, Wanfang, PubMed and Web-of-Science databases, the literature on autophagy and herb-induced liver injury in the past decade was reviewed to clarify the relationship between autophagy and disease occurrence. Then we summarize common drugs and the mechanism of herb-induced liver injury caused by autophagy. The control strategies of herb-induced liver injury were summarized, too. Results Autophagy plays a dual role in the herb-induced liver injury. Autophagy pathway and autophagy-related molecules can be changed in the case of excessive activation or excessive inhibition to cause herb-induced liver injury. Conclusion The regulation of autophagy pathway is expected to be a new method for the prevention and treatment of herb-induced liver injury. Targeted control strategies are important measures to realize the safety risk monitoring of Chinese herbal medicine.

Keywords: Autophagy, Herb-induced liver injury, Signal pathway, Control strategy Action mechanism

(责任编辑: 李青)