

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research高尿酸血症加剧对乙酰氨基酚所致肝损伤的
作用和机制研究Research on the aggravating effect and mechanism of hyperuricemia
on acetaminophen - induced liver injury黄浩林, 黎梦婷, 周佑熙,
张帅帅, 庞建新, 吴 婷

(南方医科大学 药学院, 广东 广州 510515)

HUANG Hao - lin, LI Meng - ting,
ZHOU You - xi,
ZHANG Shuai - shuai,
PANG Jian - xin, WU Ting(School of Pharmaceutical Sciences,
Southern Medical University, Guangzhou
510515, Guangdong Province, China)基金项目: 国家自然科学基金资助项目
(82003819); 广东省医学科研基金
资助项目 (A2023120)作者简介: 黄浩林 (2003 -), 男, 本科, 主要从
事高尿酸血症方面的研究

通信作者: 吴婷, 实验师

MP: 15622170467

E - mail: wuting2014@smu.edu.cn

摘要:目的 探索高尿酸血症 (HUA) 对对乙酰氨基酚 (APAP) 诱导的肝损伤的作用及潜在机制。方法 将雄性小鼠随机分为 A 组 (空白对照组)、B 组 (构建 HUA 模型)、C 组 (灌胃给予 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ APAP) 及 D 组 (构建 HUA 模型 + 灌胃给予 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ APAP) 4 组。通过持续 14 d 腹腔注射氧嗪酸钾 ($350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 联合灌胃次黄嘌呤 ($450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 制备 HUA 小鼠模型, 在第 13 d 给 C 组和 D 组小鼠灌胃 APAP, 并于 24 h 后处死小鼠。用生化分析仪检测各组小鼠的血清尿酸 (UA)、血清谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 水平, 用苏木精 - 伊红 (H&E) 染色法评估小鼠肝组织病理状态, 用试剂盒检测肝组织脂质过氧化损伤标志物丙二醛 (MDA)、氧化应激损伤标志物活性氧 (ROS)、肝功能标志物谷胱甘肽 (GSH)、炎症损伤因子白介素 $1 - \beta$ (IL - 1β) 和肿瘤坏死因子 - α (TNF - α) 水平, 用免疫荧光分析法检测核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 的蛋白相对表达水平。结果 A 组、B 组、C 组和 D 组的 UA 含量分别为 (186.20 ± 15.61)、(521.50 ± 56.81)、(325.20 ± 31.74) 和 (682.00 ± 49.51) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 肝系数分别为 (4.51 ± 0.14)%、(4.77 ± 0.23)%、(4.98 ± 0.21)% 和 (5.51 ± 0.30)%; 血清 ALT 水平分别为 (55.80 ± 15.86)、(78.09 ± 10.92)、(27688.81 ± 7166.01) 和 (34571.89 ± 7793.74) $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$; AST 水平分别为 (159.90 ± 29.72)、(143.70 ± 26.46)、(10880.00 ± 4291.01) 和 (19824.84 ± 7874.64) $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$; MDA 含量分别为 (5.42 ± 0.38)、(7.77 ± 0.32)、(6.07 ± 0.31) 和 (9.08 ± 0.36) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$; ROS 含量分别为 (28.09 ± 3.52)、(39.67 ± 2.70)、(32.22 ± 4.71) 和 (45.67 ± 2.71) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$; GSH 含量分别为 (2.47 ± 0.27)、(1.72 ± 0.16)、(2.24 ± 0.16) 和 (1.37 ± 0.11) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$; IL - 1β 含量分别为 (22.16 ± 0.88)、(31.74 ± 1.82)、(25.35 ± 1.07) 和 (38.82 ± 1.68) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$; TNF - β 分别为 (114.90 ± 10.60)、(180.20 ± 3.72)、(142.20 ± 4.69) 和 (228.10 ± 17.33) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$; Nrf2 蛋白相对表达水平分别为 218.30 ± 5.16 、 63.60 ± 29.02 、 100.80 ± 23.60 和 9.31 ± 8.83 ; B 组和 C 组的上述指标与 A 组相比, D 组的上述指标与 C 组相比, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 在小鼠高尿酸血症模型中, 对乙酰氨基酚引起的肝损伤作用加剧, 其作用机制可能与其下调 Nrf2 的表达有关。

关键词: 对乙酰氨基酚; 高尿酸血症; 肝损伤; 核因子 E2 相关因子 2

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.17.015

中图分类号: R969.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)17-2483-06

Abstract: Objective To explore the effect and potential mechanism of hyperuricemia (HUA) on acetaminophen (APAP) - induced liver injury. **Methods** Male mice were randomly divided into four groups;

group A (control), group B [establishment of a hyperuricemia (HUA) model], group C (administered by oral gavage at a dose of $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ APAP), and group D (establishment of a HUA model combined with administered by oral gavage at a dose of $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ APAP). The HUA model was established by intraperitoneal injection of potassium oxonate ($350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and gavage of xanthine ($450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) for 14 consecutive days. On day 13, mice in group C and group D received APAP *via* gavage. All mice were sacrificed 24 h later. Serum levels of uric acid (UA), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were determined by biochemical analyzer. Liver histopathology was evaluated by hematoxylin-eosin (H&E) staining. Levels of malondialdehyde (MDA), reactive oxygen species (ROS), glutathione (GSH), interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in liver tissues were measured using commercial kits. Immunofluorescence was used to detect the relative expression of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2). **Results** The serum uric acid levels in the group A, group B, group C and group D were (186.20 ± 15.61), (521.50 ± 56.81), (325.20 ± 31.74) and (682.00 ± 49.51) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; the liver coefficients were (4.51 ± 0.14)%, (4.77 ± 0.23)%, (4.98 ± 0.21)%, and (5.51 ± 0.30)%, respectively; the serum ALT levels were (55.80 ± 15.86), (78.09 ± 10.92), (27688.81 ± 7166.01), and (34571.89 ± 7793.74) $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; the AST levels were (159.90 ± 29.72), (143.70 ± 26.46), (10880.00 ± 4291.01), and (19824.84 ± 7874.64) $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; the hepatic MDA contents were (5.42 ± 0.38), (7.77 ± 0.32), (6.07 ± 0.31), and (9.08 ± 0.36) $\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$, respectively; the ROS contents were (28.09 ± 3.52), (39.67 ± 2.70), (32.22 ± 4.71), and (45.67 ± 2.71) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$, respectively; the GSH levels were (2.47 ± 0.27), (1.72 ± 0.16), (2.24 ± 0.16), and (1.37 ± 0.11) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$, respectively; the IL-1 β contents were (22.16 ± 0.88), (31.74 ± 1.82), (25.35 ± 1.07), and (38.82 ± 1.68) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$, respectively; the TNF- α contents were (114.90 ± 10.60), (180.20 ± 3.72), (142.20 ± 4.69), and (228.10 ± 17.33) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$, respectively; the relative protein expression of Nrf2 were 218.30 ± 5.16 , 63.60 ± 29.02 , 100.80 ± 23.60 , and 9.31 ± 8.83 , respectively. The indices in groups B and C were significantly different from those in group A, and the indices in group D were significantly different from those in group C, with all differences showing statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** In the hyperuricemia (HUA) mouse model, the liver damage induced by acetaminophen (APAP) is aggravated, and this effect may be related to the downregulation of NRF2 expression.

Key words: acetaminophen; hyperuricemia; liver injury; nuclear factor erythroid 2-related factor 2

对乙酰氨基酚 (acetaminophen, APAP) 是一种常用的非处方药,用于缓解头痛、发烧和疼痛。虽然对乙酰氨基酚相对安全,但长期大剂量使用或过量使用可引起肝损伤。对乙酰氨基酚诱导的肝损伤是多种因素共同作用的结果,包括谷胱甘肽耗竭、氧化应激和自由基产生以及细胞死亡^[1]。高尿酸血症 (hyperuricemia, HUA) 是一种以血液中尿酸水平过高为特征的疾病。它通常与痛风有关,痛风是一种由关节中尿酸结晶沉积引起的关节炎。然而,高尿酸血症也可能通过促进炎症、氧化应激和肝细胞损伤,如非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)、酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD)、病毒性肝炎、肝硬化,对其他肝脏疾病产生影响。高尿酸血症对 APAP 所致肝损伤的影响目前仍需进一步研究,因此本研究旨在探讨高尿酸血症对 APAP 诱导肝损伤的潜在影响,并初步探索可能的机制。

材料与方法

1 材料

动物 SPF级 C57BL/6J 雄性小鼠,鼠龄 6~8 周,体质量 (20 ± 2) g,由南方医科大学实验动物中心提供。动物生产许可证号为 SCXK(粤) 2021-0041,动物实验设施许可证号为 SYXK(粤) 2021-0167。本实验经南方医科大学动物伦理委员会批准(伦理批号:SMUL2022154)。

药品与试剂 APAP,纯度: $\geq 98\%$ (HPLC),规格:每瓶 25 g,批号: H2419330、氧嗪酸钾 (oxonic acid potassium salt, OA),纯度: $\geq 98\%$ (HPLC),规格:每瓶 25 g,批号: K2317036、次黄嘌呤 (hypoxanthine, HX),纯度: 99%,规格:每瓶 25 g,批号: G2205237,均由阿拉丁试剂(上海)有限公司生产;尿酸 (uric acid,

UA)、血清谷丙转氨酶(serum alanine aminotransferase, serum ALT)和血清谷草转氨酶(serum aspartate aminotransferase, serum AST)测定试剂盒,均由深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司生产。

仪器 Spark 多功能酶标仪,瑞士 TECAN 公司产品; BS-330E 全自动生化分析仪,深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司产品; Axio Observer 倒置荧光显微镜,德国莱卡(Leica)仪器有限公司产品。

2 实验方法

2.1 动物模型建立、分组及处理方法

为探究 APAP 造模对尿酸水平的影响,将小鼠分为 2 组,分别为 A 组(空白对照组)和 B 组(APAP 组)。适应性饲养 7 d 后, B 组小鼠灌胃给予 $300\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ APAP, A 组小鼠灌胃给予等体积生理盐水,于 24 h 后处死。

为了进一步探究 HUA 对 APAP 所致肝损伤的影响,将小鼠分为 A 组(空白对照组)、B 组(HUA 组)、C 组(APAP 组)及 D 组(APAP + HUA 组)4 组,每组 8 只。适应性饲养 7 d 后,通过持续 14 天腹腔注射氧嗪酸钾($350\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)联合灌胃次黄嘌呤($450\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)制备 HUA 小鼠模型,在第 13 d 给 C 和 D 组小鼠灌胃给予 $300\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ APAP,并于 24 h 后处死小鼠。

2.2 样品采集

第 14 d 末次给药后,进行摘眼球取血,血样室温静置 40 min 后,以 $3\,200\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,分离血清。颈椎脱臼法处死动物并于冰上分离肝组织。将肝组织浸泡于 4% 多聚甲醛溶液中固定,进行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, H&E)染色。

2.3 生化分析仪测定小鼠的血清指标

严格按照试剂盒说明书进行实验,通过生化分析仪进行 ALT 和 AST 酶活性及 UA 含量测定,依据光密度值和标准曲线计算小鼠血清中 UA、ALT 和 AST 的含量。

2.4 酶联免疫吸附试验法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定小鼠的炎症指标

严格按试剂盒说明书中的方法配制相应工作液,置涡旋仪混匀,随后分别加入待测血清样本和工作液于 96 孔板中,置摇床上振荡混合,在规定条件下通过多功能酶标仪测定相应光密度,测得血清白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平。

2.5 试剂盒法测定小鼠的氧化还原指标

严格按照试剂盒说明书的步骤进行操作,检测丙

二醛(malondialdehyde, MDA)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)的水平。

2.6 小鼠体质量及肝系数

于实验结束时,对小鼠称质量并记录,采集小鼠完整肝并称重,计算肝系数。肝系数(%) = 肝质量/小鼠体质量 $\times 100\%$ 。

2.7 小鼠肝组织病理学

将在 4% 多聚甲醛中固定好的小鼠肝组织进行脱水、浸蜡、包埋和切片($4\text{ }\mu\text{m}$),对切片进行 H&E 染色, H&E 染色切片用光学显微镜观察肝脏病理改变。

3 统计学处理

用 Graph-Pad Prism 10.1.2 软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析(ANOVA),多重比较使用 Tukey 检验方法。

结 果

1 APAP 诱导小鼠肝损伤中尿酸水平的比较

与 A 组相比, B 组的血清 ALT、AST、尿酸水平均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$),提示 APAP 诱导的肝损伤可引起血清尿酸的升高,见表 1。

2 高尿酸血症模型加重 APAP 所致肝损伤

B 组小鼠血清尿酸较 A 组显著升高($P < 0.001$),提示 HUA 造模成功,见表 2。

HUA 可以进一步引起 APAP 肝损伤小鼠的体质量下降,在 A 组中,体重在整个实验周期内保持相对稳定,未见明显波动; B 组则表现出显著的体重下降趋势; C 组体重与 A 组差异不显著,且整体波动较小; D 组体重自第 4 天起显著低于 C 组。

C 组小鼠的肝系数、ALT 和 AST 均显著高于 B 组, D 组小鼠的肝系数、ALT 和 AST 均显著高于 C 组,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$,

表 1 对乙酰氨基酚(APAP)对小鼠血清尿酸的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of acetaminophen (APAP) on serum uric acid levels in mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	ALT ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	AST ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	UA ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
A	8	68.11 ± 6.15	193.10 ± 20.15	186.33 ± 24.35
B	8	$24\,473.83 \pm 8\,140.69^{***}$	$19\,868.97 \pm 5\,030.81^{***}$	$274.50 \pm 32.93^{***}$

Group A: Mice were administered an equivalent volume of normal saline by oral gavage; Group B: Mice were administered $300\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ acetaminophen (APAP) by oral gavage; ALT: Alanine transaminase; AST: Aspartate transaminase; UA: Uric acid; Compared with the group A, *** $P < 0.001$.

$P < 0.01, P < 0.001$), 见表2。

肝组织 HE 染色结果显示: 对照组小鼠肝小叶结构正常, 肝索排列整齐有序, 肝细胞呈放射状规则分布; 与对照组相比, B 组和 C 组的肝小叶结构不清晰, 肝索排列无序, 肝细胞分布紊乱; 与 B 组和 C 组相比, D 组的肝小叶结构更加模糊, 肝索排列混乱, 肝细胞分布更紊乱, 见图1。

3 HUA 通过下调核因子 E₂ 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2 – related factor 2, Nrf2) 加重 APAP 小鼠肝氧化应激与炎症反应

B 组小鼠的 MDA、ROS、IL-1 β 和 TNF- α 水平与 A 组比较均显著升高, GSH 水平均显著降低, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)。C 组的 MDA、IL-1 β 和 TNF- α 水平与 A 组比较均显著升

高, 在统计学上差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$); C 组的 ROS 和 GSH 水平与 A 组比较, 统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。D 组小鼠的 MDA、ROS、IL-1 β 和 TNF- α 水平与 C 组比较均显著升高, GSH 水平均显著降低, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$), 见表3。

免疫荧光分析结果显示: DAPI 染色各组肝细胞核分布情况一致。NRF2 蛋白相对表达水平分别为 218.30 ± 5.16 、 63.60 ± 29.02 、 100.80 ± 23.60 和 9.31 ± 8.83 , 与 A 组相比, B 组及 C 组的 Nrf2 荧光信号显著减弱, 提示 Nrf2 蛋白表达水平下降。与 C 组小鼠相比, D 组小鼠肝脏 Nrf2 荧光信号显著减弱, 且 D 组 Nrf2 荧光强度最低, 几乎接近背景水平。提示 HUA 可能通过下调 Nrf2 加剧 APAP 引起的氧化应激与炎症反应。

表2 高尿酸血症对小鼠血清尿酸水平、肝系数及肝功能指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of hyperuricemia on serum uric acid levels, liver coefficient and hepatic function parameters in mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Serum UA ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Liver coefficient (%)	ALT ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	AST ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)
A	8	186.20 ± 15.61	4.51 ± 0.14	55.80 ± 15.86	159.90 ± 29.72
B	8	$521.50 \pm 56.81^{***}$	4.77 ± 0.23	78.09 ± 10.92	143.70 ± 26.46
C	8	325.20 ± 31.74	$4.98 \pm 0.21^{**}$	$27688.81 \pm 7166.01^{***}$	$10880.00 \pm 4291.01^{***}$
D	8	682.00 ± 49.51	$5.51 \pm 0.30^{##}$	$34571.89 \pm 7793.74^{##}$	$19824.84 \pm 7874.64^{\#}$

Group C: Mice were administered $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ APAP by oral gavage; Group D: Mice were administered $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ APAP by oral gavage on the basis of Group B; Compared with group A, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$; Compared with group C, $^{\#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$.

表3 各组小鼠肝脏氧化应激与炎症反应的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of oxidative stress and inflammation in the liver of APAP-treated mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	MDA ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$)	ROS ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$)	GSH ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$)	IL-1 β ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$)	TNF- α ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{prot}^{-1}$)
A	8	5.42 ± 0.38	28.09 ± 3.52	2.47 ± 0.27	22.16 ± 0.88	114.90 ± 10.60
B	8	$7.77 \pm 0.32^{***}$	$39.67 \pm 2.70^{***}$	$1.72 \pm 0.16^{***}$	$31.74 \pm 1.82^{***}$	$180.20 \pm 3.72^{***}$
C	8	$6.07 \pm 0.31^{*}$	32.22 ± 4.71	2.24 ± 0.16	$25.35 \pm 1.07^{**}$	$142.20 \pm 4.69^{**}$
D	8	$9.08 \pm 0.36^{###}$	$45.67 \pm 2.71^{###}$	$1.37 \pm 0.11^{###}$	$38.82 \pm 1.68^{###}$	$228.10 \pm 17.33^{###}$

Compared with group A, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$; Compared with group C, $^{###}P < 0.001$; MDA: Malondialdehyde; ROS: Reactive oxygen species; GSH: Glutathione; IL-1 β : Interleukin-1 β ; TNF- α : Tumor necrosis factor- α .

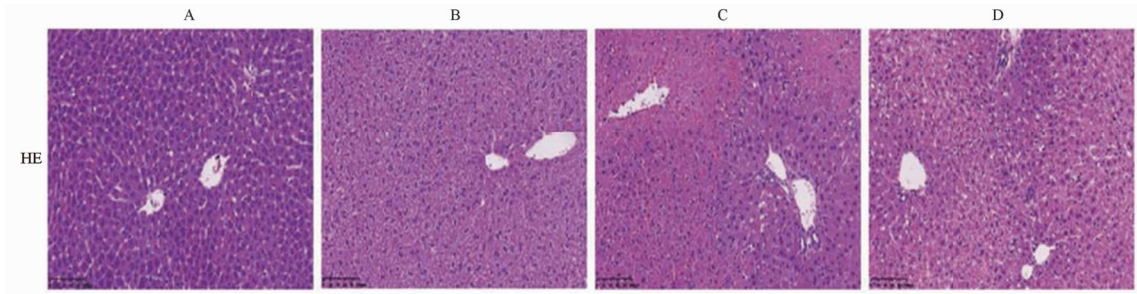


图1 肝组织苏木精-伊红(H&E)染色显微照片($\times 200$)

Figure 1 The hematoxylin-eosin(H&E)staining micrographs of the liver tissue($\times 200$)

讨 论

对乙酰氨基酚诱导的肝损伤 (acetaminophen - induced liver injury, AILI) 是药物性肝损伤 (drug - induced liver injury, DILI) 中最主要的类型之一,其典型特征为肝细胞坏死与肝功能酶的升高^[2]。有研究表明,尿酸在 NAFLD 与肝纤维化等肝病状态中,与 ALT、AST 升高呈协同关系^[3]。本研究发现,APAP 可诱导体内尿酸水平的升高,提示在 AILI 中尿酸可能起到关键作用,这为进一步探究 HUA 与 AILI 的关系奠定了理论基础。

尿酸是人体嘌呤代谢的最终产物,主要由肝脏通过黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase, XO) 催化嘌呤代谢产生。尿酸不仅仅是单纯的代谢废物,它在肝疾病中扮演着重要的角色^[4]。研究表明,HUA 主要通过诱发脂质代谢紊乱、增强氧化应激、激活炎症反应等多重机制造成 NAFLD、ALD、病毒性肝炎、肝硬化等病理状态^[5-6]。其中,氧化应激与炎症反应是导致肝脏疾病最主要的原因之一。过去的研究发现,UA 通过两种激活方式激活核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide - binding oligomerization domain - like receptor protein 3, NLRP3) 炎症小体,进而引起炎症反应,一是晶体依赖性途径,UA 在体内形成单钠尿酸盐 (monosodium urate, MSU) 结晶后,可被巨噬细胞吞噬并激活其中的 NLRP3 炎症小体,引起 IL - 1 β 和 TNF - α 等促炎因子的释放^[7];二是非晶体依赖性途径,溶解状态下的 UA 可直接与 Toll 样受体 4 (Toll like receptors 4, TLR4) 或 TLR2 结合,激活 NF - κ B 信号,诱导 NLRP3 炎症小体转录并释放促炎因子^[8-9]。通过激活免疫细胞中参与氧化应激产物释放的关键酶——NADPH 氧化酶,增加 ROS 的产生,ROS 通过氧化修饰 NLRP3 蛋白 (如半胱氨酸残基巯基氧化),增强其与 NIMA 相关激酶 7 (NIMA related kinase 7, NEK7) 的结合能力,促进炎症小体组装并释放促炎因子;促炎因子 (如 TNF - α) 刺激线粒体 ROS 产生,形成“氧化应激 - 炎症恶性循环”,最终导致氧化应激和炎症反应的发生^[10-12]。ROS 的积累会导致肝细胞膜受损,引起细胞凋亡,促进 ALT 和 AST 的释放;而严重的炎症反应和免疫细胞的浸润会使肝功能受损并加剧 ALT/AST 水平的升高和肝细胞坏死^[13]。本研究显示,与空白对照组相比,B 组和 C 组的 ALT 和 AST 含量升高,肝损伤程度较高。与 C 组相比,D 组的 ALT 和 AST 含量显著升高,肝损伤程度显著升高,说

明 HUA 可显著加剧 APAP 引起的肝损伤。

Nrf2 是氧化应激和炎症反应的重要调节因子^[14]。在没有应激时,Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch - like ECH - associated protein, Keap1) 与 Nrf2 结合,促使 Nrf2 被泛素化并降解,维持 Nrf2 的低表达水平。当细胞面临氧化应激时,ROS 与 Keap1 中的半胱氨酸残基发生反应,使其无法与 Nrf2 结合,游离的 Nrf2 通过转运蛋白进入细胞核,与抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 结合,启动一系列抗氧化酶基因 (如 HO - 1、NQO1 等) 和解毒酶基因 (GSTs) 的表达,从而降低 ROS 含量,减少氧化应激,进而抑制核因子 κ B (nuclear factor kappa - B, NF - κ B) 通路和 NLRP3 炎症小体的激活等多条途径,减少促炎因子 (如 TNF - α 、IL - 1 β) 的释放,起到抗炎和抗氧化的作用^[15]。GSH 是参与机体内氧化还原反应的关键还原剂,其含量下降可能暗示体内氧化应激的加剧^[16-17]。MDA 含量是间接反映组织氧化应激程度的一个重要指标,为脂质过氧化过程的重要标志物,可反应出机体潜在抗氧化能力^[18]。MDA 的增加常常伴随着体内炎症反应的加剧^[17]。本研究显示,相较空白对照组,B 组的 GSH 含量显著下降,而 ROS、MDA、IL - 1 β 和 TNF - α 含量均显著上升。与 C 组相比,D 组的 GSH 含量显著下降,ROS、MDA、IL - 1 β 和 TNF - α 含量也显著上升,说明 HUA 加剧了 AILI 中的氧化应激与炎症反应。免疫荧光分析表明,APAP 和 HUA 单独存在时可降低 Nrf2 的蛋白表达水平,而与 C 组相比,D 组小鼠 Nrf2 的蛋白表达水平显著下降。由此提示 HUA 可能通过下调 Nrf2 的表达,导致其下游抗氧化基因表达减少,削弱肝脏 ROS 清除能力,ROS 积累而激活 NF - κ B 通路,促进 TNF - α 、IL - 1 β 等促炎因子释放,形成“氧化应激 - 炎症恶性循环”,从而加剧对乙酰氨基酚所致的肝损伤。提示在临床实践中,高尿酸血症患者在接受 APAP 治疗时应高度警惕其可能引发的肝损伤,特别是在长期或高剂量使用 APAP 的情况下。此外,未来的研究可以考虑将 Nrf2 信号通路作为防治 AILI 的潜在靶点,进一步探索其临床应用价值。

本研究提示:HUA 能提高肝细胞的氧化应激程度,加重肝组织的炎症反应,从而加剧 APAP 诱导的肝损伤。其机制与可能下调 Nrf2 的表达进而抑制其抗氧化作用有关。

参考文献:

- [1] LI R, WU H, XU Y, *et al.* Underlying mechanisms and treatment of acetaminophen - induced liver injury (Review) [J]. *Mol Med*

- Rep, 2025, 31(4):106.
- [2] LAKSHMI T, SRI RENUKADEVI B, SENTHILKUMAR S, *et al.* Seed and bark extracts of acacia catechu protects liver from acetaminophen induced hepatotoxicity by modulating oxidative stress, antioxidant enzymes and liver function enzymes in Wistar rat model [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: e838—e844. 2018 - 09 - 24 [2025 - 03 - 27]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30372895/>.
- [3] 刘云霄, 王转国, 徐强, 等. 肥胖和高尿酸血症对代谢相关脂肪性肝病脂肪变性和纤维化的影响 [J]. *肝脏*, 2024, 29(3): 303—307, 318.
- [4] DALBETH N, GOSLING A L, GAFFO A, *et al.* Gout [J]. *Lancet Lond Engl*, 2021, 397(10287):1843—1855.
- [5] FAIENZA M F, COGNETTI E, FARELLA I, *et al.* Dietary fructose; From uric acid to a metabolic switch in pediatric metabolic dysfunction - associated steatotic liver disease [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2025, 65(23):4583—4598.
- [6] KANBAY M, JENSEN T, SOLAK Y, *et al.* Uric acid in metabolic syndrome; From an innocent bystander to a central player [J/OL]. *Eur J Intern Med*, 2016, 29: e3—e8. 2015 - 12 - 15 [2025 - 03 - 27]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26703429/>.
- [7] MARTINON F, PETRILLI V, MAYOR A, *et al.* Gout - associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome [J]. *Nature*, 2006, 440(7081):237—241.
- [8] JIN M, YANG F, YANG I, *et al.* Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases [J]. *Front Biosci Landmark Ed*, 2012, 17(2): 656—669.
- [9] ZHANG C, YANG Y. Targeting toll - like receptor 4 (TLR4) and the NLRP3 inflammasome; Novel and emerging therapeutic targets for hyperuricaemia nephropathy [J]. *Biomol Biomed*, 2023, 24(4):688—697.
- [10] ZAMUDIO - CUEVAS Y, MARTINEZ - LOPEZ V, LUJAN - JUAREZ I A, *et al.* Anti - inflammatory and antioxidant effect of poly - gallic acid (PGAL) in an *in vitro* model of synovitis induced by monosodium urate crystals [J]. *Inflammation*, 2022, 45(5): 2066—2077.
- [11] BARTOLI F, CLERICI M, CROCAMO C, *et al.* The antioxidant uric acid and depression: Clinical evidence and biological hypotheses [J]. *Acta Psychiatr Scand*, 2018, 137(1):79.
- [12] ZHU Y, CHEN P, HU B, *et al.* MDSC - targeting gold nanoparticles enhance PD - 1 tumor immunotherapy by inhibiting NLRP3 inflammasomes [J/OL]. *Biomaterials*, 2024, 307: e122533. 2024 - 03 - 13 [2025 - 03 - 27]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38493671/>.
- [13] 刘莲, 孟宪群, 包璇, 等. 白芍多糖对小鼠急性肝损伤的保护与机制研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(4): 518—522.
- [14] KOSZTELNIK M, KURUCZ A, PAPP D, *et al.* Suppression of AMPK/aak - 2 by NRF2/SKN - 1 down - regulates autophagy during prolonged oxidative stress [J]. *FASEB J*, 2019, 33(2): 2372—2387.
- [15] CHIO I I C, JAFARNEJAD S M, PONZ - SARVISE M, *et al.* NRF2 promotes tumor maintenance by modulating mRNA translation in pancreatic cancer [J]. *Cell*, 2016, 166(4):963—976.
- [16] DENICOLA G M, KARRETH F A, HUMPTON T J, *et al.* Oncogene - induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis [J]. *Nature*, 2011, 475(7354):106—109.
- [17] 程玉洁, 刘国伟, 陆恩庆, 等. 白皮杉醇对呕吐毒素致小鼠肝损伤的保护作用研究 [J]. *中国畜牧兽医*, 2025, 52(3): 1447—1454.
- [18] 边亚礼, 杨艳双, 巩江华, 等. 苦参碱减轻对乙酰氨基酚诱导小鼠肝损伤的研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(2): 225—229.

(收稿日期 2025 - 03 - 28)