·综述·

高内涵技术在药物线粒体损伤毒性机制研究中的应用

宋佳敏[1],王　萌[1],陈美玲[2]
(天津中医药大学 1 组分中药国家重点实验室,2 中药学院,天津 301617)

[摘要] 高内涵技术是一种细胞成像技术,利用其自动显微镜、荧光探针及图像分析系统可以同时获得细胞的多项参数,具有高效、快速、多指标的优点,目前已经逐渐用于多种药物细胞毒性的分析和筛选。本文综述了近年来高内涵技术在研究药物对肝脏、肾脏、神经等组织线粒体损伤机制中的应用,旨为进一步药物毒性研究及安全用药提供参考。

[关键词] 高内涵分析;高内涵筛选;药物毒性;线粒体损伤;毒性机制
[中图分类号] R965　[文献标志码] A　[文章编号] 1003-3734(2021)20-1861-06

Application of high content analysis in the study of toxicity mechanism of drug mitochondrial damage

SONG Jia-min[1], WANG Meng[1], CHEN Mei-ling[2]
(*Tianjin University of Traditional Chinese Medicine* 1 *State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine*, 2 *School of Chinese Materia Medica*, *Tianjin* 301617, *China*)

[**Abstract**] High content technology is a kind of cell imaging technology, which can obtain many parameters of cells simultaneously by using its automatic microscope, fluorescence probe and image analysis system. It has the advantages of high efficiency, high speed and multi index, and has been gradually used in the analysis and screening of various drug cytotoxicity. This paper reviews the application of high content technology in the study of mitochondrial damage mechanism of liver, kidney, nerve and other tissues in recent years, aiming to provide reference for further drug toxicity research and safe drug use.

[**Key words**] high content analysis; high content screening; drug toxicity; mitochondrial damage; mechanisms of toxicity

近年来,随着人们健康观念的变化,用药安全性问题受到更多的关注,药物在发挥疗效的同时产生的毒副作用也更多地受到了关注,药物毒性成为许多药物停产或新药开发失败的主要原因。不同的药物具有不同的作用靶点以及作用机制,相应地也会产生不同的不良反应[1]。药物的毒性机制复杂,不同的药物会对细胞核、线粒体、细胞膜、细胞信号通路等造成不同程度的损伤,因此,明确药物的毒性机制,可以为药物安全性问题的解决提供很好的理论基础。传统的药物毒性机制研究采用动物体内实验的方法,但动物实验耗时、费用昂贵,体外药物毒性机制研究为药物非临床安全性评价提供了很好的数据支持,因此,各种体外毒性检测技术也随之出现[2],体外细胞毒性检测是体外毒性评价的一个主要方法,化学比色法如 MTT 比色法、台盼蓝染色法等可用于活细胞数量检测;各种显微技术如荧光倒置显微镜等的出现,促进了对细胞显微结构及亚显微结构的观察[3];此外细胞流式技术、蛋白免疫印迹法(Western Blot)各种试剂盒及多种荧光染色技

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81873191)
[作者简介] 宋佳敏,女,硕士研究生在读,研究方向:新型制剂制备与研究。E-mail:15122833075@139.com。
[通讯作者] 王萌,女,副研究员,硕士生导师,研究方向:中药生物药剂学研究、中药制剂稳定性研究。E-mail:mengwangr@163.com。陈美玲,女,副教授,硕士生导师,研究方向:纳米材料在生命科学中的应用。E-mail:custard.chen@tjutcm.edu.cn。

术的出现,大大促进了体外细胞毒性检测技术的丰富与发展[4],高内涵技术便是联用荧光技术中的一种。高内涵技术的出现,改变了以往传统的通过动物实验研究药物毒性的方法,通过在细胞水平上进行体外检测,对活细胞成像,获得细胞的多种参数,得到药物的作用靶点及毒性机制,此方法方便、准确、迅速,逐渐受到更多研究者的青睐[5]。本文对近十几年来,高内涵技术在药物毒性机制,尤其是药物引起的线粒体损伤方面的应用进行综述。

1 高内涵技术介绍

1.1 基本概念、原理及优势 高内涵技术即高内涵筛选(high content screening, HCS)或高内涵分析(high content analysis, HCA),是一种结合了细胞生物学的分子工具和自动高分辨率显微镜及自动分析功能的活细胞成像技术[6]。高内涵技术在细胞水平进行研究,在保持细胞结构完整性的条件下,通过活细胞成像、荧光探针技术以及聚类分析等手段获得其亚细胞结构、细胞因子、结构蛋白、细胞周期等多项数据,具有高通量、多指标的优点[7]。细胞荧光图像是高内涵技术获得数据的主要途径,通过使用不同的荧光探针或荧光蛋白对细胞的不同结构进行标记,获得不同细胞结构的数据或细胞表型[8]。Giuliano 等[9]在 20 世纪 90 年代首次将高内涵技术应用于医药行业,通过获得细胞的多个参数准确定位药物对于细胞的作用,为发现药物作用靶点、高通量筛选提供了新的技术方法。

1.2 高内涵技术的应用 高内涵技术从出现发展至今,已经逐渐应用于多个领域。主要包括药物开发、生态毒理学研究[7,10]、细胞生物学研究[11]、传染病学中基因筛选[12]及抗病毒药物筛选。目前,高内涵技术常用于药物开发的各个方面,包括靶点验证、先导化合物的筛选、药物作用机制及毒性研究。高内涵技术的应用可在先导化合物临床前研究初期就过滤掉大量生物活性或安全性不理想的化合物,这一点是普通高通量筛选(HTS)所达不到的[13]。因此,其可在新药研究早期集中获取细胞毒性、细胞靶点、代谢途径等多种数据,节省后续研究的时间和精力。本文就高内涵技术在药物毒性机制研究,尤其是线粒体损伤机制研究中的应用进行综述,展现出高内涵技术在该领域药物研究中的技术优势。

2 药物毒性与线粒体损伤

药物毒性是指用药剂量过大或用药时间过长而引起机体损伤,即功能障碍或组织病变,药物毒性大多具有剂量依赖性[14]。药物产生毒性的靶标可以是机体的任何细胞、组织、器官,不同药物结构不同,则其靶细胞、靶器官也不同,因此,产生不良反应的机制也不同[15-19]。较为常见的药物来源性毒性效应主要有肝毒性、肾毒性以及神经毒性,这主要与药物代谢途径和组织特异性有关。目前所报道的药物毒性机制复杂,主要包括:① 通过破坏细胞膜,影响细胞内环境稳态,引起细胞凋亡。② 线粒体是细胞的主要能量供应场所,药物造成线粒体损伤,能量供应不足,导致细胞死亡。③ 药物引起氧化应激,使细胞内活性氧(ROS)等自由基含量增加,ROS 自由基增多,破坏体内谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化系统,减少抗氧化系统对自由基的清除,造成组织损伤。④ 药物直接作用于细胞凋亡或自噬相关蛋白,引起细胞凋亡自噬。其中,许多药物可以通过引起线粒体损伤而产生毒性。

线粒体损伤机制复杂,涉及多种细胞信号通路,见图 1。① 线粒体是细胞呼吸的主要场所,细胞在线粒体发生氧化磷酸化偶联产生三磷酸腺苷(ATP),为机体提供能量。某些药物干扰细胞呼吸,发生线粒体电子传递链(ETC)抑制,阻断电子传递,线粒体内积累的电子与氧分子形成 ROS,其累积量增加,引起氧化应激[20]。② 氧化磷酸化受损,某些药物直接作用于 ATP 合酶以损害 ATP 生成,ATP 水平也会因 ETC 抑制或膜电位丧失而降低[21]。③ 线粒体 DNA 损伤,药物抑制线粒体 DNA 的复制与线粒体蛋白的合成[22]。④ 线粒体膜通透性转换孔(mPTP)是存在于线粒体内外膜之间的一组蛋白质复合体,虽然其分子组成尚未明确,但其在维持线粒体膜通透性方面起着重要的调控作用[23]。正常生理情况下,mPTP 允许小分子量离子通过,可以通过氧化磷酸化来驱动 ATP 合成酶,维持线粒体膜电位。当线粒体受到刺激时,mPTP 完全开放,许多大分子量离子通过,会造成线粒体膜电位降低,离子平衡紊乱,基质肿胀,引起细胞坏死[24]。⑤ 解偶联氧化磷酸化:药物通过解偶联线粒体内膜(IMM)中的蛋白质,将 H^+ 离子从膜内转移到基质,解偶联线粒体呼吸作用,导致质子梯度损失和 ATP 合成受损。⑥ 线粒体是脂肪酸 β 氧化的场所,某些药物抑制参与脂肪酸 β 氧化酶的合成,造成脂肪酸堆积,抑制脂肪酸氧化供能,会对机体造成很大损伤,甚至猝死等[25]。线粒体功能障碍会产生过多 ROS,从而产生

氧化应激，而氧化应激的产生会影响线粒体 DNA、蛋白质、ETC 复合物、线粒体膜完整性，从而加速线粒体功能障碍及细胞凋亡，二者相互影响，相互促进。可见，氧化应激也是药物引起细胞凋亡或者坏死的一个主要原因，但氧化应激不仅仅发生在线粒体中。研究表明，有些药物会使细胞膜脂质过氧化，导致细胞膜通透性下降，流动性下降，膜蛋白功能异常，从而破坏生物膜正常功能，胞质内 ROS 聚集，产生氧化应激[26]。此外，氧化应激的发生除了加速线粒体功能障碍外，ROS 会激活 NF-κB 转录，促进各种促炎因子如肿瘤坏死因子 α（TNFα）等释放，触发炎性反应，损伤细胞[27]。除线粒体功能障碍及氧化应激外，还有些药物作用于诱导细胞凋亡或自噬的信号因子或调控蛋白，常见的有 Bax/B 淋巴细胞瘤-2（Bcl-2）细胞凋亡家族蛋白。药物通过诱导促凋亡蛋白 Bax 的表达上调，抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达下调，诱导半胱氨酸蛋白酶（caspase）相关蛋白表达，引起 caspase 依赖性细胞凋亡[28]。

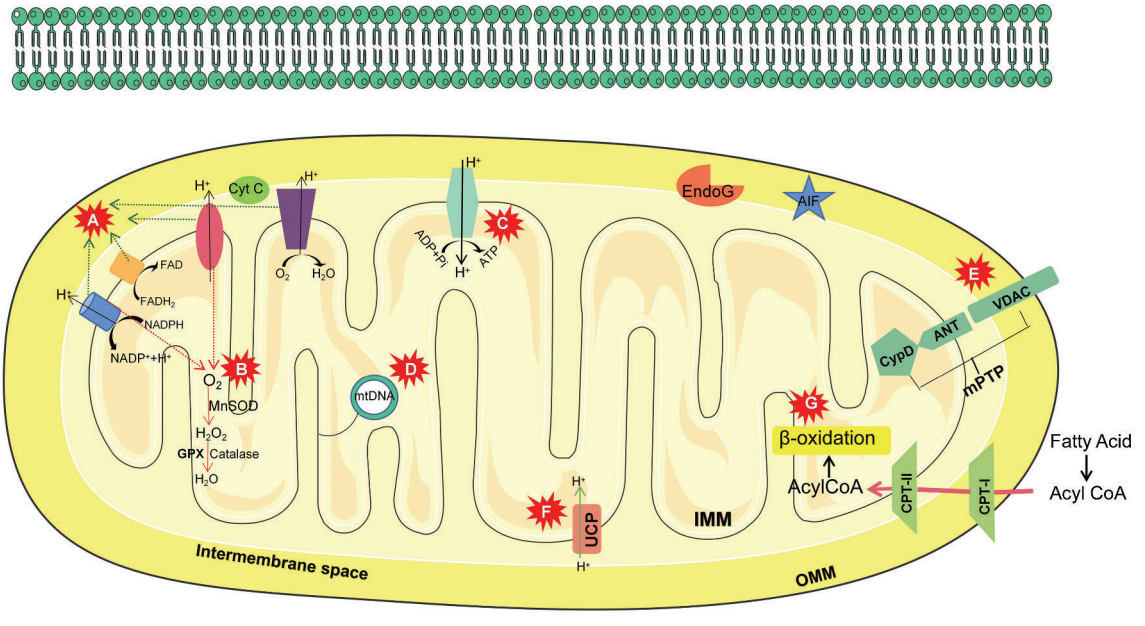


图 1　线粒体损伤机制

3　高内涵技术在肝毒性及线粒体损伤研究领域的应用

肝脏是药物代谢的主要器官，同时也是药物毒性的主要靶器官。目前可以引起肝损伤的药物有 1 100 多种，主要包括非甾体类消炎镇痛药、中药生物碱类、抗生素类、抗肿瘤药物、抗代谢药物等[29-30]。药物性肝损伤分为直接性肝损伤和特异质肝损伤，直接性肝损伤是指药物或其代谢产物直接破坏肝细胞引起肝损伤，多具有剂量依赖性，一般可预测；特异质肝损伤的药物对肝脏影响通常并不剧烈，具有特异性，一般具有不易察觉、不可预测的特点。无论是直接性肝损伤或特异质肝损伤，药源性肝毒性的发生目前均被认为与线粒体损伤有关[31-32]。

线粒体是“细胞的能量工厂”，是细胞进行有氧呼吸产生 ATP 的主要场所，同时，线粒体也是药物性肝损伤的主要靶部位[33-35]。mPTP 的开放是线粒体受损的原因之一，mPTP 的开放与 Ca^{2+} 浓度有关，Ca^{2+} 浓度升高会促进 mPTP 的开放，研究发现，鬼臼毒素使 Ca^{2+} 浓度升高，Ca^{2+} 稳态失调，促进 mPTP 的开放，破坏线粒体膜通透性，使线粒体膜电位降低，基质肿胀，引起线粒体功能障碍[36]。Boncler 等[37]使用高内涵技术分析研究多酚化合物对 HepG2 细胞的毒性机制，发现多酚类化合物会使线粒体膜电位降低，造成线粒体损伤。Persson 等[38]以 HepG2 细胞为模型，建立了一种基于核计数、线粒体膜电位、线粒体面积，同时没有单一假阳性的区域来判断药物肝毒性的方法，经验证，这种方法可以对多种肝毒性药物进行筛选，且具有良好的敏感性。亲环素 D（cypD）也可以介导 mPTP 的开放，不可逆的开放会导致线粒体应激和功能紊乱[39]。

ROS 的产生及堆积引起的氧化应激会造成线

粒体功能障碍。药物作用于细胞呼吸 ETC,发生 ETC 抑制,电子堆积与氧分子形成 ROS。超氧阴离子(O^{2-})、过氧化氢(H_2O_2)就是其中的 2 种。这些自由基存在于生物体内,会对生物体多种组织细胞产生损伤。SOD、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽(GSH)、线粒体内的细胞色素 C 等是体内重要的抗氧化系统,可以有效清除体内自由基。而当药物作用于抗氧化系统,使其活力下降,则会使细胞内 ROS 量增加,从而对细胞产生毒害作用,促进细胞死亡,即氧化应激[40]。任艳青等[41]对京尼平苷及体内代谢物京尼平对 HepG2 细胞的毒性机制进行研究发现,京尼平苷和京尼平在肝细胞内会影响细胞内锰超氧化物歧化酶(MnSOD)、CAT、GSH 等抗氧化系统,使其活性下降,无法及时清除体内自由基,使 ROS 增加,进而发生氧化应激,产生线粒体功能障碍。MnSOD 位于线粒体内,是重要的抗氧化酶,可以有效清除氧自由基,ROS 的产生会使 MnSOD 的表达上调,刘利波[42]利用高内涵技术评价过氧化合物酶体增殖体激活受体 PPAR α/δ 激动剂 F3SM 和 F3SMDM 对 HepG2 细胞线粒体内 MnSOD 量的影响,发现 2 种化合物均使 MnSOD 的表达上调,显示出明显的氧化应激及线粒体损伤,造成肝细胞毒性。

线粒体是脂肪酸 β 氧化的主要场所,脂肪酸 β 氧化产生 ATP,为脑、心脏、肝脏、骨骼肌等提供能量。当药物抑制脂肪酸 β 氧化过程,会造成脂肪酸在线粒体的堆积,无法为机体提供能量,从而造成细胞凋亡[43]。Pradip 等[44]使用高内涵技术分别测定了盐酸胺碘酮、盐酸四环素以及多西环素对人多功能干细胞(hPSC)、人诱导多能干细胞(hiPSC)诱导的肝细胞以及 HepG2 细胞的毒性作用,发现 hiPSC 诱导肝细胞在磷脂中毒的检测上敏感性大于 HepG2,而在脂肪变性方面二者敏感性一致。由此看来,体外细胞水平毒性研究应根据各细胞对药物敏感程度及其适用特点,综合不同的需求,确定细胞模型。

4 高内涵技术在神经毒性及线粒体损伤研究领域的应用

神经系统的细胞包括神经元细胞和神经胶质细胞。神经元细胞是一种高度分化的细胞,可以接受、整合、传导和输出信息实现信息交换及传导兴奋。神经胶质细胞数量众多,主要起保护神经元细胞的作用。麻醉类药物、中枢神经兴奋或抑制药、抗癫痫药、镇痛药、致幻药等是常见的可以引起神经毒性的药物[45]。此类型药物引起的神经损伤包括发生神经炎性反应、氧化应激、线粒体功能障碍及细胞凋亡。研究表明,神经毒性与许多神经系统疾病有关,如阿尔茨海默病、帕金森病等[46-47]。Ca^{2+} 是神经细胞中与信号传递相关的第二信使,Ca^{2+} 增加会促进 mPTP 的开放,增加线粒体膜通透性,降低线粒体膜电位,使信息交换减弱[48]。线粒体作为氧化磷酸化偶联产生 ATP 的主要场所,药物可以作用于氧化磷酸化过程,抑制 ATP 的合成,引起线粒体功能障碍。此外,药物作用于细胞呼吸链,引起 ETC 抑制,电子积累,与游离氧分子形成 ROS,发生氧化应激,加速线粒体功能障碍发生,进而造成神经细胞毒性[49]。祁妍敏等[50]和于红燕等[51]小组运用高内涵筛选技术评估甲喹酮(安眠酮)等 11 种药物,分别对 PC12 细胞、原代海马神经元细胞的线粒体质量、MnSOD 水平进行检测,发现安眠酮、多塞平(多虑平)和地西泮等可以引起 PC12 细胞线粒体质量改变,MnSOD 水平升高,引起线粒体损伤;安眠酮、多虑平、地西泮、氯苯那敏、氯氮平等会引起海马神经元细胞线粒体质量改变,MnSOD 水平升高,引起线粒体损伤。因此,线粒体膜电位降低,线粒体膜通透性增加,线粒体质量改变,ATP 合成受损,Mn-SOD,CAT,GSH 等抗氧化系统被破坏,均可造成神经细胞线粒体功能障碍,从而引起毒性。许多研究小组以上述指标变化为神经细胞毒性判断基准,并结合神经细胞特有的细胞宽长变化、轴突树突生长等细胞形态改变建立了一种神经毒性高内涵筛选及分析方法,经验证,该方法可用于 36 种化学品的表征,灵敏度高、准确性好[52]。

5 高内涵技术在肾毒性及线粒体损伤研究领域的应用

肾脏是药物排泄的主要器官,大多药物经肝脏代谢后的代谢物经肾脏排出。因此,肾脏经常受到外界刺激而产生毒性。相关报道显示,含蒽醌、黄酮类化合物和糖苷类化合物的中药会引起肾毒性[53]。常用于体外肾细胞毒性研究的细胞有人胚肾细胞(Hek-293)、肾近曲小管细胞(HK-2)[54]、猪肾上皮细胞(LLCPK1)等。高内涵技术用于肾毒性研究,使用 Rhodamine 123,Mitro Tracker Deep Red FM,Hoechst33342 对细胞进行染色,分别表征线粒体膜电位、线粒体质量及细胞核的状态。常见的肾毒性药物会引起线粒体膜通透性改变、线粒体膜电位

下降、氧化应激等，造成线粒体功能障碍，从而促进线粒体相关凋亡蛋白的表达，促进细胞凋亡[55-57]。在肾毒性研究中，常将顺铂、马兜铃酸、环孢素 A、缬氨霉素作为不同毒性机制的阳性药，用以检测或验证待测药物的肾毒性及其作用机制。顺铂是一种常用的化疗药，其作用于 HK-2 细胞可以引起细胞线粒体膜通透性改变，促进凋亡蛋白的释放，表现为明显的细胞抑制作用，引起细胞凋亡[58]；马兜铃酸会使线粒体功能失调，继而出现 DNA 含量增加，造成线粒体功能障碍，引发肾细胞毒性[59]；环孢素 A 是一种有效的免疫抑制剂，会引起明显的氧化应激、线粒体功能障碍，引起 ROS 增加，线粒体内抗氧化酶无法及时清除，ROS 的堆积产生肾细胞毒性[60]；缬氨霉素是一种常见抗生素，随浓度增加依次观察到线粒体膜电位下降、核 DNA 含量增加、细胞色素 C 含量降低，细胞色素 C 是线粒体中的一种抗氧化系统，破坏细胞色素 C 会造成线粒体功能障碍，引起肾细胞毒性[61]。

6 结语

药物的安全性评价一直是药物上市进入临床前的重要步骤，药物上市后使用时产生的毒性或严重不良反应已经成为大多数药物被迫停产或被市场召回的主要原因[62]。近年来，虽然高内涵技术的出现及应用大大促进了药物毒性机制的研究，但仍有许多药物的毒性机制尚未发现。目前，高内涵技术主要用于肝细胞毒性、神经细胞毒性及肾细胞毒性研究，在心肌细胞毒性和生殖遗传毒性研究等方面的应用尚待普及。高内涵技术用于亚细胞结构如内质网、自噬小体的荧光标记技术正在发展和完善中。此外，相关报道发现，高内涵技术逐渐与各种技术联合使用，如 RNA 荧光原位杂交技术、拉曼散射[63]、近红外光荧光探针[64]、彗星芯片技术等，为药物毒性机制的研究提供更加快速高效的细胞成像分析平台。随着相关显微技术、生物影像技术及分析系统的发展，高内涵技术会更好地用于药物毒性机制的深入研究。

[参 考 文 献]

[1] 董世芬，宁一博，靳洪涛. 中药不良反应与中药毒性研究进展[J]. 医药导报，2019，38(11)：1419－1424.

[2] 林志，吕建军，霍桂桃，等. 临床前药物安全性评价中的毒性病理学[J]. 药物评价研究，2017，40(4)：450－454.

[3] 陈海媚，谢晓芳，彭成. 中药毒理学研究中体外细胞毒性的评价指标及检测方法[J]. 中国实验方剂学杂志，2017，23(22)：202－210.

[4] 刘涛，郭辰，赵晓红. 毒理学研究中的体外细胞毒性评价[J]. 生命科学，2014，26(3)：319－324.

[5] 赵宏伟. 高内涵成像与数据分析[J]. 生命的化学，2017，37(3)：434－438.

[6] 王萌萌，何玲，胡梅，等. 高内涵筛选技术及其在药学研究中的应用[J]. 药学进展，2011，35(11)：481－486.

[7] 黄超，言野，李娜，等. 高内涵筛选技术的原理及其在生态毒理学的应用[J]. 生态毒理学报，2015，10(2)：2－12.

[8] KETTELER R，KRISTON-VIZI J. High-content screening in cell biology[M]//Encyclopedia of cell biology. Amsterdam：Elsevier，2016：234－244.

[9] GIULIANO KA，DEBIASIO RL，DUNLAY RT，*et al*. High-content screening：a new approach to easing key bottlenecks in the drug discovery process[J]. *J Biomol Screen*，1997，2(4)：249－259.

[10] WILSON J，BERNTSEN HF，ZIMMER KE，*et al*. Effects of defined mixtures of persistent organic pollutants (POPs) on multiple cellular responses in the human hepatocarcinoma cell line，HepG2，using high content analysis screening[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*，2016，294(3)：21－31.

[11] CHANDRASEKHARAN A，VARADARAJAN SN，LEKSHMI A，*et al*. A high-throughput real-time *in vitro* assay using mitochondrial targeted roGFP for screening of drugs targeting mitochondria[J]. *Redox Biol*，2019，20(1)：379－389.

[12] MATTIAZZI USAJ M，STYLES EB，VERSTER AJ，*et al*. High-content screening for quantitative cell biology[J]. *Trends Cell Biol*，2016，26(8)：598－611.

[13] 陈梦云，江国荣. 高内涵筛选技术在复方活性部位追踪与成分发现中的应用[J]. 安徽医药，2013，17(7)：1089－1090.

[14] 韩运祺，肖云峰，钱新宇，等. 药物毒理学的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志，2019，33(10)：835.

[15] 李梦婷，张慧琼，文瑞琪，等. 基于斑马鱼研究附子脂溶性总生物碱的神经毒性[J]. 中药药理与临床，2019，35(6)：63－66.

[16] 葛运炫. 乌头类生物碱经 CYP 代谢对心肌细胞毒性和 hERG 通道的影响[D]. 合肥：安徽医科大学，2019.

[17] 孙晓倩. 益母草总生物碱肾毒性研究与机制探讨[D]. 济南：山东中医药大学，2017.

[18] SUNIL VR，VAYAS KN，ABRAMOVA EV，*et al*. Lung injury，oxidative stress and fibrosis in mice following exposure to nitrogen mustard[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*，2020，387：114798.

[19] 缪莹莹，罗岚，舒婷，等. 雷公藤多苷与等量雷公藤甲素所致肝脏毒性差异及分子机制探究[J]. 中国中药杂志，2019，44(16)：3468－3477.

[20] VUDA M，KAMATH A. Drug induced mitochondrial dysfunction：Mechanisms and adverse clinical consequences[J]. *Mitochondrion*，2016，31(10)：63－74.

[21] MORATÓ L，SANDI C. Mitochondrial function and stress resilience[M]//Stress resilience. Amsterdam：Elsevier，2020：119－132.

[22] ZHANG X，WU X，HU Q，*et al*. Mitochondrial DNA in liver inflammation and oxidative stress[J]. *Life Sci*，2019，236(11)：116464.

[23] 金曼，吴娟，黎笔熙. 线粒体膜通透性转换孔在细胞凋亡中的作用[J]. 医学研究生学报，2019，32(11)：1222－1227.

[24] 王小磊. 亲环素 D 的表达增加诱发肝脏脂质沉积的机制研究[D]. 济南：山东大学，2018.

[25] 苏停停，张勇，王东琦. 线粒体醛脱氢酶在酒精性心肌病发生、发展过程中的作用[J]. 当代医药论丛，2018，16(21)：18－20.

[26] HELMY MM，HELMY MW，EL-MAS MM. Additive renoprotection by pioglitazone and fenofibrate against inflammatory，oxidative and apoptotic manifestations of cisplatin nephrotoxicity：modulation by PPARs[J]. *PLoS One*，2015，10(11)：e0142303.

[27] 周艳丹. 基于 PI3K/AKT/NF-κB 信号通路探讨 20(R)-人参皂苷 Rg3 对肝肾损伤的保护作用[D]. 长春：吉林农业大学，2019.

[28] 马永超，杜晓鹃，李海龙，等. 白细胞介素-6 对胰腺癌荷瘤小鼠移植瘤生长及 caspase-3/bax/bcl-2 信号通路的影响[J]. 解剖学报，2020，51(2)：216－219.

[29] 李红颖，杨翠平，靳洪涛. 常用药物肝损伤发生机制研究进展[J]. 中国药物警戒，2019，16(12)：750－756.

[30] 娄小娥，陈敏，杨波. 分子靶向抗肿瘤药物的毒性研究进展[J]. 浙江大学学报(医学版)，2015，44(5)：473－478.

[31] 郭荣荣，张缭云. 药物性肝损伤发病机制研究进展[J]. 中西医结合肝病杂志，2020，30(1)：27－30.

[32] HOOFNAGLE JH，BJÖRNSSON ES. Drug-induced liver injury-types and phenotypes[J]. *N Engl J Med*，2019，381(3)：264－273.

[33] WANG M，LIU CX，DONG RR，*et al*. Safety evaluation of Chinese medicine injections with a cell imaging-based multiparametric assay revealed a critical involvement of mitochondrial function in hepatotoxicity[J]. *Evid-Based Compl Alt*，2015，2015：379586.

[34] CECATTO C，AMARAL AU，WAJNER A，*et al*. Disturbance of mitochondrial functions associated with permeability transition pore opening induced by Cis-5-tetradecenoic and myristic acids in liver of adolescent rats[J]. *Mitochondrion*，2020，50(2)：1－13.

[35] SILVA AM，BARBOSA IA，SEABRA C，*et al*. Involvement of mitochondrial dysfunction in nefazodone-induced hepatotoxicity[J]. *Food Chem Toxicol*，2016，94(8)：148－158.

[36] 焦玉菡. 基于多参数高内涵筛选的早期药物肝毒性研究[D]. 昆明：昆明理工大学，2018.

[37] BONCLER M，GOLANSKI J，LUKASIAK M，*et al*. A new approach for the assessment of the toxicity of polyphenol-rich compounds with the use of high content screening analysis[J]. *PLoS One*，2017，12(6)：e0180022.

[38] PERSSON M，LØYE AF，MOW T，*et al*. A high content screening assay to predict human drug-induced liver injury during drug discovery[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*，2013，68(3)：302－313.

[39] 林栋. 棕榈酸通过 CypD 介导的线粒体应激抑制 StAR 表达[D]. 济南：山东大学，2016.

[40] FANG S，LIN FB，QU DF，*et al*. Characterization of purified red cabbage anthocyanins：improvement in HPLC separation and protective effect against H_2O_2-induced oxidative stress in HepG2 cells[J]. *Molecules*，2018，24(1)：124.

[41] 任艳青，田宇柔，李琛，等. 京尼平苷及其体内代谢产物京尼平对 HepG2 细胞毒性的比较及机制研究[J]. 中国药理学通报，2016，32(12)：1755－1761.

[42] 刘利波. 应用高内涵分析技术进行候选化合物肝细胞毒性研究[D]. 北京：中国人民解放军军事医学科学院，2011.

[43] 娄小娥，陈敏，杨波. 分子靶向抗肿瘤药物的毒性研究进展[J]. 浙江大学学报(医学版)，2015，44(5)：473－478.

[44] PRADIP A，STEEL D，JACOBSSON S，*et al*. High content analysis of human pluripotent stem cell derived hepatocytes reveals drug induced steatosis and phospholipidosis[J]. *Stem Cells Int*，2016，2016：2475631.

[45] CHAN ST，MCCARTHY MJ，VAWTER MP. Psychiatric drugs impact mitochondrial function in brain and other tissues[J]. *Schizophr Res*，2020，217(3)：136－147.

[46] WALTER J，BOLOGNIN S，ANTONY PMA，*et al*. Neural stem cells of Parkinson's disease patients exhibit aberrant mitochondrial morphology and functionality[J]. *Stem Cell Reports*，2019，12(5)：878－889.

[47] KIM T，YANG HY，PARK BG，*et al*. Discovery of benzimidazole derivatives as modulators of mitochondrial function：a potential treatment for Alzheimer's disease[J]. *Eur J Med Chem*，2017，125(1)：1172－1192.

[48] 王瑞芳. GLP-1 类似物利拉鲁肽对大鼠癫痫持续状态后脑内神经炎性反应及线粒体应激的影响[D]. 太原：山西医科大学，2018.

[49] WANG A，SI Z，XUE P，*et al*. Tacrolimus protects hippocampal neurons of rats with status epilepticus through suppressing oxidative stress and inhibiting mitochondrial pathway of apoptosis[J]. *Brain Res*，2019，1715(7)：176－181.

[50] 祁妍敏，李学会，董莉莎，等. 基于高分化 PC12 细胞的神经毒性物质高内涵筛选方法的研究[J]. 毒理学杂志，2016，30(3)：173－178.

[51] 于红燕，祁妍敏，李学会，等. 基于原代海马神经元的神经毒性物质高内涵筛选方法的研究[J]. 毒理学杂志，2016，30(5)：363－369.

[42] WILSON MS，GRAHAM JR，BALL AJ. Multiparametric High Content Analysis for assessment of neurotoxicity in differentiated neuronal cell lines and human embryonic stem cell-derived neurons[J]. *Neurotoxicology*，2014，42(5)：33－48.

[53] YANG B，XIE Y，GUO MJ，*et al*. Nephrotoxicity and Chinese herbal medicine[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*，2018，13(10)：1605－1611.

[54] LI S，ZHAO J，HUANG R，*et al*. Development and application of human renal proximal tubule epithelial cells for assessment of compound toxicity[J]. *Curr Chem Genom Transl Med*，2017，11(2)：19－30.

[55] 陈煜，凌霄，余丽梅，等. 中药成分对顺铂肾毒性的保护作用及其机制的研究进展[J]. 肿瘤药学，2020，10(1)：21－26，33.

[56] MENEELY JP，HAJŠLOVÁ J，KRSKA R，*et al*. Assessing the combined toxicity of the natural toxins，aflatoxin B1，fumonisin B1 and microcystin-LR by high content analysis[J]. *Food Chem Toxicol*，2018，121(11)：527－540.

[57] CLARKE R，CONNOLLY L，FRIZZELL C，*et al*. High content analysis：a sensitive tool to detect and quantify the cytotoxic，synergistic and antagonistic effects of chemical contaminants in foods[J]. *Toxicol Lett*，2015，233(3)：278－286.

[58] 肖珠，王志斌，郑虎占，等. 利用高内涵分析技术进行药物肾细胞毒性筛选的研究[J]. 中国药学杂志，2017，52(14)：1246－1250.

[59] MA Z，CAO X，GUO X，*et al*. Establishment and validation of an *in vitro* screening method for traditional Chinese medicine-induced nephrotoxicity[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*，2018，2018：2461915.

[60] 王立娜. 大青木香肾毒性研究及高内涵肾细胞毒性筛选方法的建立[D]. 北京：北京中医药大学，2016.

[61] QUERIDO E，DEKAKRA-BELLILI L，CHARTRAND P. RNA fluorescence in situ hybridization for high-content screening[J]. *Methods*，2017，126(8)：149－155.

[62] 曹烨，万邦喜，苏敏实. 药物临床试验安全评价·广东共识(2020 年版)[J]. 今日药学，2020，30(11)：731－740.

[63] LIU E，NOLAN JP. Surface enhanced Raman scattering (SERS) image cytometry for high-content screening[M]//Fluorescence microscopy. Amsterdam：Elsevier，2014：93－108.

[64] ZHANG XH，ZHAO N，WANG B，*et al*. Structure-inherent near-infrared fluorescent probe mediates apoptosis imaging and targeted drug delivery *in vivo*[J]. *Dyes Pigments*，2017，138：204－212.

编辑：刘卓越/接受日期：2021－06－25