



中药药理与临床

Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica

ISSN 1001-859X, CN 51-1188/R

## 《中药药理与临床》网络首发论文

题目: 补骨脂醇提物对免疫应激模型大鼠的特异质肝损伤及机制研究  
作者: 陈小菲, 王晓艳, 李伟霞, 张辉, 张明亮, 吴娅丽, 张书琦, 泥文娟, 陈毓龙, 李琨, 冯科冉, 唐进法  
DOI: 10.13412/j.cnki.zyyl.20230111.003  
网络首发日期: 2023-01-12  
引用格式: 陈小菲, 王晓艳, 李伟霞, 张辉, 张明亮, 吴娅丽, 张书琦, 泥文娟, 陈毓龙, 李琨, 冯科冉, 唐进法. 补骨脂醇提物对免疫应激模型大鼠的特异质肝损伤及机制研究[J/OL]. 中药药理与临床. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.20230111.003>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## 补骨脂醇提物对免疫应激模型大鼠的特异质肝损伤及机制研究\*

陈小菲<sup>1,2</sup>, 王晓艳<sup>1,2</sup>, 李伟霞<sup>1,2,3</sup>, 张辉<sup>1,2</sup>, 张明亮<sup>1,2</sup>, 吴娅丽<sup>1,2</sup>, 张书琦<sup>1,2</sup>, 泥文娟<sup>3</sup>, 陈毓龙<sup>3</sup>, 李琨<sup>3</sup>, 冯科冉<sup>3</sup>, 唐进法<sup>1,2,3\*\*</sup>

(1. 河南中医药大学第一附属医院, 郑州 450000; 2. 河南省中药临床应用、评价与转化工程研究中心, 河南省中药临床药学中医药重点实验室, 郑州, 450000; 3. 河南中医药大学药学院, 郑州 450046)

**摘要 目的:** 基于免疫应激大鼠模型, 研究补骨脂特异质肝损伤属性及相关作用机制。**方法:** 将大鼠分为正常对照组、补骨脂组、脂多糖模型对照组、补骨脂+脂多糖模型组。补骨脂组和补骨脂+脂多糖模型组灌胃补骨脂醇提物 3.6 g/kg, 补骨脂+脂多糖模型组在灌胃 2 h 后尾静脉注射 2.0 mg/kg 的脂多糖, 在尾静脉注射脂多糖 10 h 时麻醉取血, 取大鼠肝脏。通过生化法检测血清谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 及谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 活力, 并采用苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色法检测肝脏病理变化; 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测血清白介素-1 $\alpha$  (interleukin-1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ )、IL-1 $\beta$ 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-18、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) 及干扰素  $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , INF $\gamma$ ) 等多项指标水平; 全自动生化分析仪检测血清免疫球蛋白 G (Immunoglobulin G, IgG)、IgM 及补体 C3、C4 等水平; 流式细胞术检测全血免疫细胞亚群比例; 免疫组化法检测肝脏中免疫细胞数量及能量代谢相关指标丝氨酸-苏氨酸激酶 1 (serine/threonine kinase, LKB1), 单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK), CREB 分子调节转录共激活剂 1 (CREB-regulated transcription coactivator 1, TORC1) 蛋白表达水平。**结果:** 与正常对照组比较, 模型对照组可明显升高血清 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18 含量 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 升高全血 CD4<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>比例、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>比例、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 升高

\*基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: U1904129、82173993); 河南省自然科学基金项目 (编号: 212300410188); 河南省中医药科学研究专项课题 (编号: 2019ZYBJ08、2017ZY2019); 河南省高等学校重点科研项目 (编号: 19A360007); 河南省中医药拔尖人才培养项目 (豫中医科教[2018]35 号); 河南省高校科技创新团队 (编号: 23IRTSTHN026)。

\*\* 通信作者: 唐进法, 博士, 主任药师, 从事中药质量评价及安全性研究, E-mail: a0519@163.com; 作者简介: 陈小菲, 硕士, 主管药师, 从事临床中药学研究, E-mail: chenxiaofei5555@163.com。

肝脏 CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>蛋白表达，肝脏 AMPK、TORC1 蛋白表达 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )；降低血清 C4 含量、全血淋巴细胞总数、全血 CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>比例，肝脏 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值 ( $P<0.01$ )，肝脏 LKB1 的蛋白表达 ( $P<0.01$ )；与脂多糖致免疫应激大鼠模型比，补骨脂+脂多糖模型组 ALT、AST 均明显升高 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )，肝脏切片可见明显的病理损伤；血清 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 TNF $\alpha$  水平升高，补体 C4 含量明显降低 ( $P<0.05$ )；全血 CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>比例明显降低，CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值升高 ( $P<0.05$ )；肝脏组织中 CD3<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>表达明显升高 ( $P<0.05$ )；肝脏 TORC1 蛋白表达显著升高 ( $P<0.05$ )。**结论：**研究结果证实了补骨脂特异质肝损伤的属性，其作用机制可能与免疫应激与能量代谢相互作用有关。

**关键词：**补骨脂；特异质肝损伤；免疫应激；能量代谢

补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L.的干燥成熟果实，具有温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻等作用，用于肾阳不足、阳痿遗精、遗尿尿频、腰膝冷痛、肾虚作喘、五更泄泻；外用治疗白癜风、斑秃<sup>[1]</sup>。2020 年版《中国药典》（一部）收录含补骨脂的中成药有 45 种，目前市场上含有补骨脂的中成药有 200 余种。然而，近年来，补骨脂及其相关制剂造成肝损伤的报道越来越多，国家药品不良反应监测中心针对白蚀丸、仙灵骨葆胶囊和壮骨关节丸等中成药引发的肝损伤也进行了多次通报，更有临床研究报道称单味补骨脂即可诱发肝损伤<sup>[2]</sup>。鉴于此，对补骨脂及相关制剂的基础研究越来越受到各界学者的关注，但研究结果不尽相同<sup>[3-5]</sup>，例如周昆教授课题组对含补骨脂制剂、补骨脂生药、提取物及单体成分的肝毒性进行了评价，研究表明大剂量补骨脂水提物可导致小鼠肝脏肿胀变性，有明显的肝毒性，并可影响胆汁酸转运体的表达，降低胆盐输出泵和钠离子-牛磺胆酸共转运蛋白表达，主要毒性成分包括补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素；但有其他课题组采用急性毒性及亚急性毒性试验研究评价补骨脂水提取物毒性，发现其毒性不明显，在临床人用剂量 80 倍时有一定的肝毒性。由此可见，补骨脂肝毒性的问题还有待进一步研究。

随着药品上市后再评价监测逐步加强，药物性肝损伤由原来的两类发展到了三类，即直接肝毒性、特异质肝毒性和间接肝毒性<sup>[6]</sup>。其中，引发特异质肝毒性的药物，仅极少数患者会发生肝损伤，不具有明显的剂量依赖性，在上市前研究中通常不可预测。特异质肝损伤进一步又可分为免疫特异质和代谢特异质，其中免疫应激状态下的患者更容易发生药源性特异质肝损伤<sup>[7]</sup>。研究发现，脂多糖可以激活免疫系统和炎症细胞，释放炎症因子可以放大炎症反应，增加肝脏对药物的敏感性，联合对肝功能指标无显著影响剂量的脂多糖与药物共同作用的免疫敏化的动物模型评价药物特异质肝毒性与临床实际情况较为接近，是目前公认的免疫干预的促炎性增强免疫易感动

物模型<sup>[8]</sup>。补骨脂代谢组学研究发现，补骨脂对肝损伤大鼠柠檬酸循环（TCA 循环）、丙酮酸代谢、糖酵解/糖异生等通路有明显影响，表明补骨脂肝损伤与能量代谢密不可分<sup>[9]</sup>。鉴于此，本研究通过尾静脉注射对肝功能指标无显著影响剂量的脂多糖复制免疫应激动物模型研究补骨脂的肝损伤属性，并从免疫应激和能量代谢两方面探讨其肝损伤机制。

## 1 材料与方法

**1.1 试验药物** 补骨脂中药材饮片（批号：20190101）购自郑州瑞龙制药股份有限公司，经河南中医药大学第一附属医院陈天朝主任药师鉴定，补骨脂为豆科补骨脂属植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L.的成熟果实，符合 2020 年版《中华人民共和国药典》一部项下的饮片来源规定。称取补骨脂适量，粉碎，加 10 倍量 95%乙醇浸泡 0.5 h 后，置于电热套中加热回流提取 2 次，每次 2 h，提取物过滤得滤液，合并 2 次滤液，用旋转蒸发器回旋至无醇味后浓缩，得补骨脂醇提取物。补骨脂提取物生药含量为 3.41 g/g，提取物中代表性成分补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂二氢黄酮、补骨脂定、补骨脂宁、新补骨脂异黄酮的含量分别为 3.14、3.10、4.51、4.50、0.67、0.80、0.42、1.48 mg/g。加适量羧甲基纤维素钠研磨均匀，定容制备成相应浓度受试物备用。

**1.2 动物** 试验所用动物为 SPF 级雄性 SD 大鼠，体质量为 180 g ~190 g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，实验动物生产合格证号：SCXK（京）2016-0006。将大鼠饲养于通风良好、12 h 照明/12 h 黑暗的 SPF 环境中，室温（20±1）℃，相对湿度（60±5）%，饲养期间大鼠均自由摄食与饮水。本实验已通过河南中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会批准（批准号：YFYDW2020017、YFYDW2022013）。

**1.3 试剂** 脂多糖（批号：046M4045V，Sigma 公司）；天冬氨酸转氨酶试剂盒（aspartate aminotransferase, AST, 批号：20200320）、丙氨酸转氨酶试剂盒（alanine aminotransferase, ALT, 批号：20200320）购自南京建成生物工程研究所；白细胞介素 1 $\alpha$ （Interleukin1 $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ ）、IL-1 $\beta$ 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-18、肿瘤坏死因子  $\alpha$ （tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ ）、干扰素  $\gamma$ （interferon- $\gamma$ , INF- $\gamma$ ）以及细胞生长因子（epidermal growth factor, EGF）试剂盒均购自上海茁彩生物科技有限公司（批号均为：20200619）；PE-CyTM5 标记的小鼠抗大鼠 CD4<sup>+</sup>抗体（批号：5274535）、FITC 标记的小鼠抗大鼠 CD3<sup>+</sup>抗体（批号 4233838）、PE 标记的小鼠抗大鼠 CD25<sup>+</sup>抗体（批号：5023766）、Alexa Fluor 647 标记的小鼠抗大鼠 CD8<sup>+</sup>抗体（批号 6053868）、流式细胞分析用溶血素（批号 8206815）均购于美国 BD 公司；免疫组化的兔抗鼠 CD3<sup>+</sup>抗体（批号 GB13014）、兔抗鼠 CD8<sup>+</sup>抗体（批号：GB13068）、兔抗鼠 CD4<sup>+</sup>抗体（批号：GB13064）购自武汉谷歌生物科技有限公司；兔抗鼠 CREB 分子调节转录共激活剂 1

(CREB-regulated transcription coactivator 1, TORC1) 抗体 (批号 00091202) 购于武汉三鹰生物技术有限公司; 兔抗鼠单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK) 抗体 (批号: 1C4512) 和兔抗鼠丝氨酸-苏氨酸激酶 1 (serine/threonine kinase, LKB1) 抗体 (批号: 78V9631) 均购于博格隆上海生物技术有限公司; 免疫组化试剂盒 DAB 显色剂 (批号: 212300111)、PV9000 试剂盒 (批号: 2030B0706) 均购自北京中杉生物工程有限公司。

**1.4 仪器** Neofuge 1600R 型低温台式高速离心机 (上海力申科学仪器有限公司); Multiskan FC 型酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific); Nikon Ci 型显微镜 (日本 Nikon); Rm-2235 型石蜡切片机、EG1150H 型包埋机 (德国 Leica); TL-820 型冰冻切片机 (湖北泰维科技实业有限公司)。

## 1.5 方法

**1.5.1 分组、造模与给药** 将 32 只 SD 大鼠随机分为 4 组: 正常对照组、补骨脂 3.6 g/kg 组 (根据课题组前期探索肝功能结果确定, 相当于临床等效剂量的 4 倍)、脂多糖模型对照组 (2.0 mg/kg, 注射体积 3.5 mL/kg) 和补骨脂+脂多糖模型组, 每组 8 只。正常对照组和脂多糖模型对照组灌胃羧甲基纤维素钠, 补骨脂组和补骨脂+脂多糖模型组灌胃补骨脂混悬液, 灌胃体积 10 mL/kg, 灌胃 2 h 后, 正常对照组和补骨脂组尾静脉注射生理盐水, 脂多糖模型对照组和补骨脂+脂多糖模型组大鼠参考文献<sup>[10]</sup>尾静脉注射 2.0 mg/kg 的脂多糖。

**1.5.2 取材及处理** 尾静脉注射脂多糖 10 h 后, 采用 10% 水合氯醛麻醉大鼠, 通过腹主动脉取血, 1500 r/min, 离心 10 min, 分装血清后于 -80 °C 冰箱保存, 备用。然后, 取大鼠肝组织 (1.5 cm×1 cm×0.5 cm), 立即固定于 10% 福尔马林溶液中。最后, 将剩余的肝组织放入 -80 °C 冰箱冻存。

### 1.5.3 观察指标

**1.5.3.1 血清中肝功能指标活性检测** 取冻存的血清常规解冻, 严格按照试剂盒说明书进行操作, 然后利用酶标仪检测血清中 ALT、AST 活力。

**1.5.3.2 肝组织病理学观察及评分** 取固定 48 h 以上的大鼠肝脏组织, 制备常规肝脏病理学切片 (5 μm), 经 HE 染色后, 采用显微镜观察其病理学变化, 并拍照。病理评分<sup>[11]</sup>: 1 分, 肝细胞未见明显变性或坏死, 无细胞肿胀及炎细胞浸润等现象, 肝小叶组织结构趋于完整状态; 2 分, 肝细胞呈局限性变性或坏死, 可发现有细胞肿胀现象, 偶尔可见炎细胞浸润, 肝小叶组织结构有一定改变; 3 分, 肝细胞呈弥散性变性及肿胀表现, 可发现有炎细胞局限性浸润现象, 肝小叶组

织呈显著性改变；4 分，肝细胞呈水样变性及明显肿胀，少数肝细胞呈酸性坏死，肝小叶结构破坏严重。

1.5.3.3 全血免疫细胞亚群检测 大鼠麻醉前眼眶取血 1 mL，分别加入 CD3<sup>+</sup>（0.25 μL）、CD4<sup>+</sup>（0.624 μL）、CD25<sup>+</sup>（0.624 μL）、CD8<sup>+</sup>（2.5 μL）抗体，加入 1 mL 溶血素后混匀，室温避光 10 min，加入 1 mL PBS 后 1500 r/min，离心 10 min，弃去上清，PBS 清洗两次，最后加入 300 μL PBS 重悬，采用流式细胞仪检测血液免疫细胞亚群比例。

1.5.3.4 肝脏组织中免疫细胞检测 取 10%福尔马林溶液固定 48 h 后的大鼠肝脏组织，采用免疫组化技术检测肝脏组织中的免疫细胞 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>阳性表达情况，检测步骤按试剂盒说明书进行操作，并利用 Image Pro Plus 6.0 软件计算其积分光密度（IOD）。

1.5.3.5 血清中免疫细胞因子检测 取分装冻存的血清，常规解冻后，采用 ELISA 法，按相应试剂盒说明书操作，利用酶标仪检测血清中白细胞介素类（IL-1α、IL-1β、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-18）、免疫介质类（TNF-α）、炎性介质类（INF-γ）、生长因子类（EGF）等指标含量。

1.5.3.6 血清中免疫球蛋白及补体检测 取分装冻存的血清，常规解冻后，采用全自动生化分析仪测定血清免疫球蛋白 G（immunoglobulin G, IgG）、免疫球蛋白 M（immunoglobulin M, IgM）、免疫球蛋白 E（immunoglobulin E, IgE）及补体 C3 和补体 C4 含量。

1.5.3.7 肝脏组织中能量代谢相关指标检测 取 10%福尔马林溶液固定的肝脏组织，采用免疫组化技术，经常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、脱蜡至水、PBS 清洗、一/二抗孵育、DAB 显色、终止显色等步骤，显微镜下观察免疫组化染色结果并拍照记录，最后使用 Image Pro Plus 6.0 软件计算其积分光密度（IOD），以此分析肝脏组织中 LKB1，AMPK 以及 TORC1 蛋白阳性表达水平。

1.5.4 统计学方法 所有数据以均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，采用 SPSS 20.0 软件对试验数据统计分析，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较，若方差齐则采用最小显著性差异法（LSD），若方差不齐则采用 Dunnett's t3 多重比较， $P < 0.05$ ， $P < 0.01$  两组差异具有显著性差异。

## 2 结果

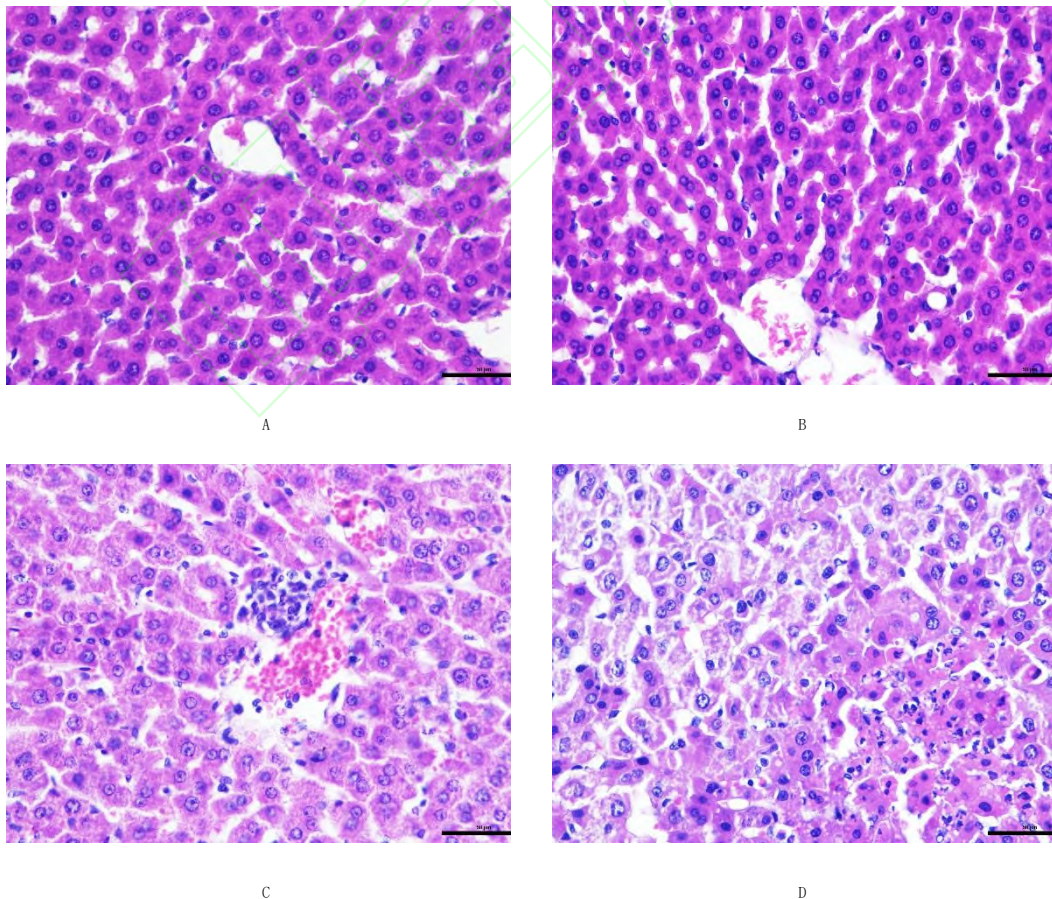
2.1 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠血清 ALT、AST 活力的影响 与脂多糖模型对照组比较，补骨脂 1.8、3.6 g/kg+脂多糖模型组大鼠血清中 ALT、AST 活力均明显升高（ $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ）。以上结果表明，补骨脂引起的肝损伤属于特异质肝损伤。考虑到实验动物的 3R 原则，后续研究以 3.6 g/kg 补骨脂为研究对象。

表 1 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠血清 ALT、AST 活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

组别	剂量/(g/kg)	ALT/(U/L)	AST/(U/L)
正常对照		10.3±2.3	21.7±2.5
补骨脂	1.8	9.8±2.1	21.2±8.6
补骨脂	3.6	8.4±5.5	14.1±8.4
脂多糖模型对照	0.002	10.5±3.5	22.2±8.4
补骨脂+脂多糖模型	1.8+0.002	66.1±13.8**	38.6±14.9*
补骨脂+脂多糖模型	3.6+0.002	40.5±26.7*	42.3±19.4**

与脂多糖模型对照组比较\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  (下同)。

**2.2 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠肝脏组织病理学的影响** 如图 1 所示, 正常对照组显示出正常的肝小叶结构, 肝细胞索从中央静脉到肝小叶的周边部分呈放射状排列, 肝血窦的窦间隙清晰, 病理评分 ( $1.0 \pm 0.0$ ) 分; 脂多糖模型对照组肝脏组织中主要静脉周围有炎症细胞浸润, 以及较大的肝细胞, 其细胞质疏松, 呈网状, 外观半透明, 病理评分 ( $1.4 \pm 0.5$ ) 分; 在补骨脂组中, 可以看到肝细胞索从中央静脉放射状延伸到肝小叶的周边, 肝窦含有红细胞, 上面覆盖着星状细胞, 偶尔有炎症细胞浸润, 病理评分 ( $1.2 \pm 0.4$ ) 分; 最值得注意的发现之一, 补骨脂+脂多糖模型组肝细胞分散性退化, 伴随着肝小叶的无序排列和单个或不规则的坏死肝细胞岛或块, 病理评分 ( $3.2 \pm 0.8$ ) 分, 显著增加 ( $P<0.01$ ), 说明补骨脂+脂多糖可致肝损伤。



A: 正常对照; B: 补骨脂 1.8 g/kg; C: 脂多糖模型对照; D: 补骨脂+脂多糖模型 3.6 g/kg+2.0 mg/kg。

图 1 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠肝脏组织病理学的影响 (HE 染色,  $\times 200$ )

2.3 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠血清细胞因子的影响 与正常对照组比较, 脂多糖模型对照组中的 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-18 含量明显升高 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ); 与脂多糖模型对照组比较, 补骨脂+脂多糖模型组 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 TNF $\alpha$  含量明显升高 ( $P<0.05$ )。见表 2、3。

表 2 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠血清细胞因子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ , pg/mL)

组别	剂量/(g/kg)	IL-1 $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-4	IL-5	IL-6
正常对照		5.39 $\pm$ 0.45*	5.8 $\pm$ 0.9*	8.8 $\pm$ 1.7	21.1 $\pm$ 6.9	16.6 $\pm$ 2.4**
补骨脂	3.6	6.12 $\pm$ 1.15	6.3 $\pm$ 1.9	9.4 $\pm$ 0.7	22.4 $\pm$ 4.4	18.4 $\pm$ 4.5
脂多糖模型对照	0.002	6.33 $\pm$ 0.87	7.2 $\pm$ 0.9	8.6 $\pm$ 1.1	20.4 $\pm$ 6.9	21.5 $\pm$ 3.6
补骨脂+脂多糖模型	3.6+0.002	7.69 $\pm$ 1.13*	8.1 $\pm$ 0.8*	9.6 $\pm$ 1.6	25.0 $\pm$ 8.3	21.3 $\pm$ 3.5

表 3 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠血清细胞因子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ , pg/mL)

组别	剂量/(g/kg)	IL-10	IL-18	TNF $\alpha$	EGF	INF- $\gamma$
正常对照		5.1 $\pm$ 1.2	16.4 $\pm$ 2.4**	31.1 $\pm$ 4.2	47.1 $\pm$ 7.0	135.1 $\pm$ 17.6
补骨脂	3.6	5.0 $\pm$ 0.4	18.9 $\pm$ 5.3	34.3 $\pm$ 7.1	50.7 $\pm$ 16.0	145.0 $\pm$ 18.2
脂多糖模型对照	0.002	4.7 $\pm$ 0.7	21.5 $\pm$ 3.4	35.2 $\pm$ 5.6	58.8 $\pm$ 14.3	123.0 $\pm$ 13.8
补骨脂+脂多糖模型	3.6+0.002	5.2 $\pm$ 0.9	24.5 $\pm$ 2.6*	40.6 $\pm$ 4.9*	62.9 $\pm$ 12.1	133.7 $\pm$ 18.9

与脂多糖模型对照组比较\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$

2.4 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠血清免疫球蛋白和补体的影响 与正常对照组比较, 脂多糖模型对照可显著降低补体 C4 水平 ( $P<0.01$ ); 与脂多糖模型对照组比较, 补骨脂+脂多糖模型组补体 C4 水平显著降低 ( $P<0.05$ )。见表 4。

表 4 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠血清免疫球蛋白和补体的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

组别	剂量/(g/kg)	C3/(g/L)	C4/(g/L)	IgG/(g/L)	IgM/(g/L)	IgE/(IU/mL)
正常对照		0.39 $\pm$ 0.03	0.040 $\pm$ 0.008**	0.48 $\pm$ 0.17	0.20 $\pm$ 0.06	22.3 $\pm$ 3.6
补骨脂	3.6	0.39 $\pm$ 0.04	0.035 $\pm$ 0.014	0.48 $\pm$ 0.13	0.21 $\pm$ 0.03	23.0 $\pm$ 3.6
脂多糖模型对照	0.002	0.35 $\pm$ 0.04	0.022 $\pm$ 0.009	0.36 $\pm$ 0.18	0.22 $\pm$ 0.03	21.9 $\pm$ 5.3
补骨脂+脂多糖模型	3.6+0.002	0.34 $\pm$ 0.04	0.014 $\pm$ 0.005*	0.37 $\pm$ 0.14	0.21 $\pm$ 0.05	22.8 $\pm$ 3.0



## 糖模型

与脂多糖模型对照组比较\* $P<0.05$ ，\*\* $P<0.01$ ；

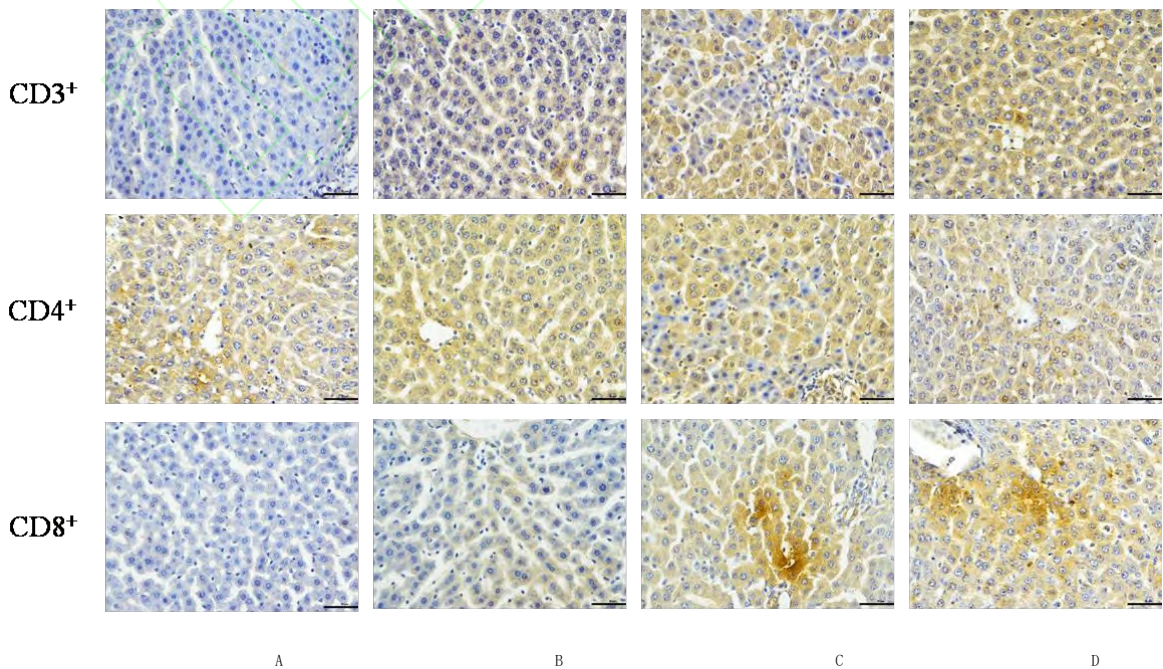
**2.5 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠全血免疫细胞亚群的影响** 与正常对照组比较，脂多糖模型对照组淋巴细胞（Lymphocyte）总数和  $CD8^+/CD3^+$  比例（ $P<0.01$ ）显著降低， $CD4^+/CD3^+$  比例（ $P<0.05$ ）、 $CD4^+CD25^+/CD3^+$  比例（ $P<0.01$ ）和  $CD4^+/CD8^+$ （ $P<0.01$ ）比值显著升高；与脂多糖模型对照组比较，补骨脂+脂多糖模型组可以显著降低  $CD8^+/CD3^+$  比例（ $P<0.05$ ），升高  $CD4^+/CD8^+$  比值（ $P<0.05$ ）。见表 5。

表 5 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠全血免疫细胞亚群的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

组别	剂量/ (g/kg)	淋巴细胞/ (%)	$CD3^+$ / (%)	$CD4^+/CD3^+$ / (%)	$CD4^+CD25^+/CD3^+$ / (%)	$CD8^+/CD3^+$ / (%)	$CD4^+/CD8^+$
正常对照		$53.7 \pm 9.5^{**}$	$47.0 \pm 4.9$	$64.9 \pm 2.9^*$	$4.6 \pm 0.7^{**}$	$28.5 \pm 2.1^{**}$	$2.29 \pm 0.20^{**}$
补骨脂	3.6	$49.3 \pm 16.2$	$41.5 \pm 5.6$	$68.5 \pm 3.1^{\Delta}$	$5.4 \pm 0.8^{\Delta}$	$26.9 \pm 2.4$	$2.57 \pm 0.35$
脂多糖模型 对照	0.002	$15.1 \pm 7.4$	$41.9 \pm 8.4$	$69.5 \pm 5.2$	$7.6 \pm 1.6$	$18.9 \pm 5.7$	$4.23 \pm 0.79$
补骨脂+脂 多糖模型	$3.6 + 0.002$	$13.7 \pm 4.4$	$44.8 \pm 7.6$	$71.1 \pm 5.7$	$8.7 \pm 3.8$	$13.5 \pm 4.4^*$	$5.68 \pm 1.40^*$

与脂多糖模型对照组比较\* $P<0.05$ ，\*\* $P<0.01$ ；与正常对照组比较 $\Delta P<0.05$ (下同)。

**2.6 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠肝脏组织免疫细胞的影响** 与正常对照组比，脂多糖模型对照组肝脏中  $CD3^+$  与  $CD8^+$  表达明显升高（ $P<0.05$  或  $P<0.01$ ）， $CD4^+/CD8^+$  比值显著降低（ $P<0.01$ ）；与脂多糖模型对照组比，补骨脂+脂多糖模型组肝脏中的  $CD3^+$  和  $CD8^+$  表达明显升高（ $P<0.05$ ）。见图 2 和表 6。



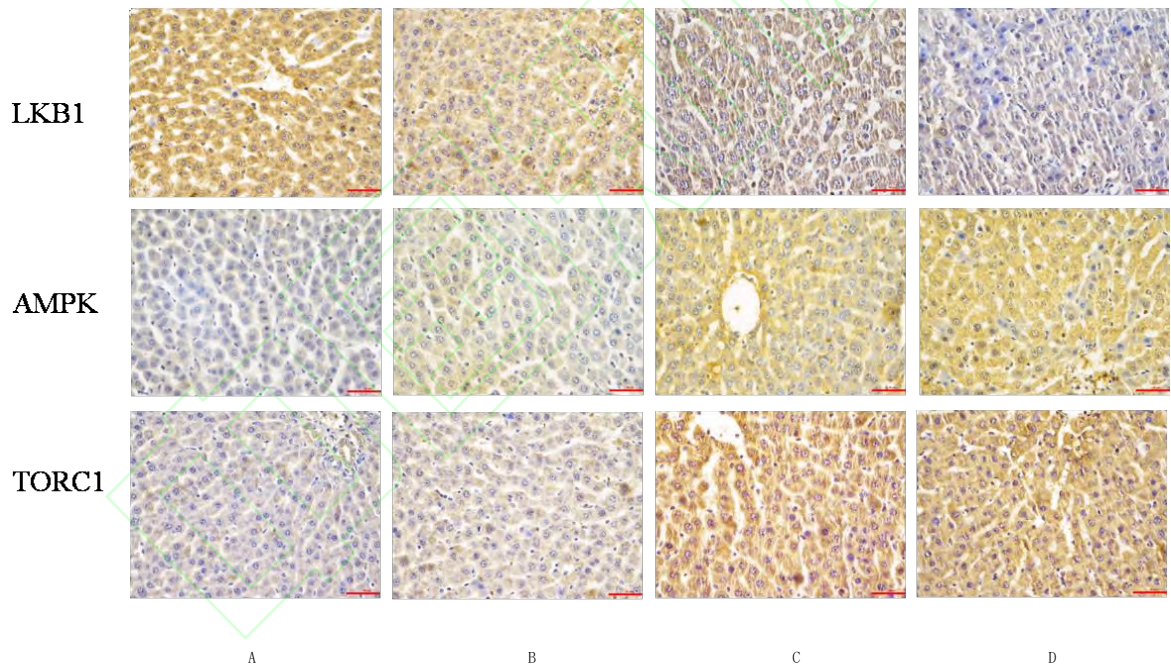
A: 正常对照; B: 补骨脂 1.8 g/kg; C: 脂多糖模型对照; D: 补骨脂+脂多糖模型 3.6 g/kg+2.0 mg/kg。

图 2 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠肝脏组织免疫细胞的影响

表 6 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠肝脏组织免疫细胞的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

组别	剂量/ (g/kg)	CD3 <sup>+</sup> /(IOD)	CD4 <sup>+</sup> /(IOD)	CD8 <sup>+</sup> /(IOD)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> 比值
正常对照		8.2±2.6*	12.6±5.2	12.0±6.6**	1.51±1.27**
补骨脂	3.6	10.7±5.6	13.4±4.4	18.6±10.4	1.15±0.94
脂多糖模型对照	0.002	12.9±4.4	12.8±5.6	32.1±16.9	0.42±0.20
补骨脂+脂多糖模型	3.6+0.002	17.0±3.1*	12.4±3.7	59.0±22.3*	0.32±0.14

2.7 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠肝脏组织中能量代谢指标的影响 与正常对照组比较, 脂多糖模型对照组肝脏中 AMPK 和 TORC1 蛋白表达显著上调 ( $P<0.01$ ), LKB1 蛋白表达量显著下调 ( $P<0.01$ ); 与脂多糖模型对照组比较, 补骨脂+脂多糖模型组肝脏中 TORC1 蛋白表达显著上调 ( $P<0.05$ )。见图 3、表 7。



A: 正常对照; B: 补骨脂 1.8 g/kg; C: 脂多糖模型对照; D: 补骨脂+脂多糖模型 3.6 g/kg+2.0 mg/kg。

图 3 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠肝脏组织中能量代谢指标的影响

表 7 补骨脂对脂多糖特异质肝损伤模型大鼠肝脏组织中能量代谢指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

组别	剂量/ (g/kg)	LKB1/(IOD)	AMPK/(IOD)	TORC1/(IOD)
正常对照		104.4±32.3**	15.8±7.4**	14.5±2.7**
补骨脂	3.6	97.6±32.7	24.7±14.8	14.1±6.0
脂多糖模型对照	0.002	28.5±16.6	63.6±21.2	62.0±19.2

### 3 讨论

药物性肝损伤是指由药物或其代谢产物导致的肝脏损伤，是药物研发失败及撤市的重要原因之一。含补骨脂制剂肝损伤的报道逐渐将补骨脂的热度放大，是国内外药品监管部门和药学研究者的重点关注对象。尽管如此，但考虑补骨脂肝毒性的发生个体差异较大，其整体发生率相对较低，或许存在高危人群，因此考虑补骨脂诱发的肝损伤类似特异质肝损伤。已有文献报道，曲伐沙星<sup>[12]</sup>、雷尼替丁<sup>[13]</sup>、双氯芬酸<sup>[14]</sup>等与对肝功能指标无显著影响剂量的脂多糖联合作用，可引发临床特异质肝损伤表型，而单独等剂量药物却无明显肝损伤反应，说明脂多糖免疫敏化模型与临床实际情况较为接近。基于此，本研究基于脂多糖模型评价补骨脂的肝毒性属性，结果发现，单独给药补骨脂 3.6 g/kg 组和脂多糖 2.0 mg/kg 组未见明显的肝损伤现象；而相同剂量的补骨脂联合脂多糖可显著升高其 ALT 和 AST 活力，且出现肝细胞变性及坏死现象，说明补骨脂引发的肝损伤为特异质肝损伤。

药物特异质肝损伤是近年来国内外研究的热点和难点，关于特异质肝损伤发生的机制主要集中在药物代谢酶基因多态性造成相关代谢缺失或活力低下、个体免疫应答异常与免疫应激反应相关等方面。目前研究表明机体免疫是特异质肝损伤发生的主要诱因，形成了半抗原假说、基因多态性假说、危险因子假说、免疫药理效应假说、免疫稳态失衡假说、免疫炎症假说和中药免疫应激“三因致病”假说等免疫学机制假说<sup>[15]</sup>。而研究表明，免疫和代谢可以相互驱动，表现为免疫活化状态下，机体可通过激活 LKB1-AMPK-mTOR 等能量代谢相关通路而影响代谢；而代谢紊乱状态下，机体可以促使 IL-1 $\beta$  等细胞因子高表达进而调控免疫紊乱<sup>[16-17]</sup>。基于此，本研究从免疫及能量代谢两方面对补骨脂特异质肝损伤机制进行探讨。

T 淋巴细胞亚群是机体内细胞免疫功能的重要指标。在免疫学中，CD3<sup>+</sup>T 细胞的共受体是一种蛋白质复合物，并且 CD3<sup>+</sup>T 细胞是细胞免疫的主要活性细胞<sup>[18]</sup>。CD4<sup>+</sup>T 细胞是人体免疫系统的一种重要免疫反应细胞，作为辅助/诱导性 T 淋巴细胞亚群，分为 Th1 和 Th2 两个亚群，前者主要分泌 IFN  $\gamma$ 、IL-2 和 IP-10 等促炎因子，后者主要分泌 IL-4、IL-10 等抗炎因子<sup>[19]</sup>。CD8<sup>+</sup>T 细胞属于抑制性 T 细胞，在细胞免疫过程中主要发挥负向调节作用，CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值可直接反映机体细胞免疫功能状态<sup>[20]</sup>。本研究结果显示，补骨脂+脂多糖组全血中的 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值显著升高，CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>比例显著降低，肝脏组织中 CD3<sup>+</sup>T 细胞与 CD8<sup>+</sup>T 细胞表达显著升高，血清中 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 TNF $\alpha$  水平显著升高，说明补骨脂在脂多糖致免疫活化状态下进一步募集和激活免疫细胞，产生大量的炎性细胞因子加重肝损伤。免疫球蛋白与 T 淋巴细胞亚群同是机体免疫防御机制的重要组成部分，是介导体液免疫的重要效应分子，可维持机体内环境

的稳态平衡，在免疫监视和抗感染中起重要作用<sup>[21]</sup>，但本试验结果显示补骨脂对 IgG、IgA、IgM 和 IgE 无明显影响，说明补骨脂特异质肝损伤机制与免疫球蛋白调节无关。C3、C4 作为重要的补体成分，可通过多个补体激活途径参与机体的免疫应答，在本研究中，补骨脂组+脂多糖组 C4 显著降低。鉴于免疫细胞、细胞因子及补体实验检测结果，说明免疫应答是补骨脂特异质肝损伤的机制之一。

AMPK 在各种代谢相关的组织中均有表达，可被机体各种刺激激活。研究表明，AMPK 俗称机体内的能量“感受器”和“调节器”，是机体维持葡萄糖平衡的重要蛋白；AMPK 也被称为“细胞能量调节器”<sup>[22]</sup>，是维持细胞内能量代谢平衡过程中的关键分子，可调控脂肪、蛋白质等的合成与转化。而 LKB1 是 AMPK 的上游激酶，mTOR 蛋白属于磷脂酰肌醇激酶相关蛋白激酶家族，进化上相对保守，是细胞营养、能量状态的传感器<sup>[23]</sup>，三者相互作用，共同在蛋白质合成和能量代谢的调控中发挥重要作用。本研究结果显示，补骨脂+脂多糖组大鼠肝脏组织中 TORC1 蛋白表达显著升高，AMPK 有升高的趋势，结合代谢组学发现的相关通路<sup>[9]</sup>，说明补骨脂特异质肝损伤与线粒体能量代谢紊乱密不可分。

综上所述，本研究通过脂多糖致免疫应激大鼠模型证实了补骨脂肝损伤为特异质肝损伤，其作用机制可能与免疫应激和能量代谢密切相关，为后续深入探讨补骨脂特异质肝损伤相关防控措施提供数据支撑。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020,-: 195.
- [2] Nam S W, Baek J T, Lee D S, et al. A case of acute cholestatic hepatitis associated with the seeds of *Psoralea corylifolia* (Boh-Gol-Zhee)[J]. *Clin Toxicol (Phila)*, 2005, 43(6): 589-591
- [3] 毕亚男, 李震, 卢国彦, 等. 补骨脂水提物对小鼠的肝毒性及胆汁酸转运的影响[J]. *药物评价研究*, 2015, 38(3): 267-270.
- [4] 尤力都孜·买买提, 艾西木江·热甫卡提, 阿布都吉力力·阿布都艾尼, 等. 补骨脂水提取物小鼠灌胃急性毒性及亚急性毒性试验研究[J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(1): 147-148.
- [5] 郭兆娟, 张晶璇, 康倩君, 等. 补骨脂对大鼠、小鼠肝毒性的比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(22): 16-25.
- [6] 王伽伯, 崔鹤蓉, 柏兆方, 等. 精准医学下的中药安全性评价策略和方法:病证毒理学[J]. *药学学报*, 2016, 51(11): 1681-1688.
- [7] Roth R A, Luyendyk J P, Maddox J F, et al. Inflammation and drug idiosyncrasy-is there a connection?[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 307(1): 1-8.
- [8] 李春雨, 李晓菲, 涂灿, 等. 基于内毒素模型的特异质肝损伤评价[J]. *药学学报*, 2015,50(1):28-33.

- [9] 王晓艳, 李伟霞, 张辉, 等. 基于代谢组学的补骨脂致特异质肝损伤机制研究[J]. 中国药物警戒, 2021, 18(11): 1014-1019.
- [10] Yee S B, Hanumegowda U M, Copple B L, et al. Endothelial cell injury and coagulation system activation during synergistic hepatotoxicity from monocrotaline and bacterial lipopolysaccharide coexposure[J]. Toxicol Sci, 2003, 74(1):203-214.
- [11] 罗亦灵, 石磊, 王颖钰, 等. 复方龙葵颗粒对四氯化碳致大鼠慢性肝损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(1): 105-109.
- [12] Waring J F, Liguori M J, Luyendyk J P, et al. Microarray analysis of lipopolysaccharide potentiation of trovafloxacin induced liver injury in rats suggests a role for proinflammatory chemokines and neutrophils[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 316(3): 1080-1087.
- [13] Luyendyk J P, Lehman-McKeeman L D, Nelson D M, et al. Coagulation-dependent gene expression and liver injury in rats given lipopolysaccharide with ranitidine but not with famotidine[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 317(2): 635-643.
- [14] Deng X, Stachlewitz R F, Liguori M J, et al. Modest inflammation enhances diclofenac hepatotoxicity in rats: role of neutrophils and bacterial translocation[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 319(3): 1191-1199.
- [15] 柏兆方, 高源, 左晓彬, 等. 免疫调控与特异质型药物性肝损伤发生机制研究进展[J]. 药学学报, 2017, 52(7): 1019-1026.
- [16] Jung J, Zeng H, Horng T. Metabolism as a guiding force for immunity[J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(1): 85-93.
- [17] Hooftman A, Angiari S, Hester S, et al. The immunomodulatory metabolite itaconate modifies NLRP3 and inhibits inflammasome activation[J]. Cell Metab, 2020, 32(3): 468-478.
- [18] 刘晓梅, 崔振泽, 景淑军, 等. 手足口病患儿淋巴细胞亚群和免疫球蛋白及补体 C3、C4 水平分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(12): 1203-1207.
- [19] Fietta P, Delsante G. The effector T helper cell triade[J]. Riv Biol, 2009, 102(1): 61-74.
- [20] 原永明, 程丽, 张舒, 等. 白血病治疗前后 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞的变化及意义[J]. 检验医学, 2016, 31(5): 387-391.
- [21] XU W, LI J Y, YAO J X, et al. T lymphocyte subsets and immunoglobulin state in peripheral blood of patients with chronic lymphocytic leukemia[J]. J Leukemia Lymphoma, 2007, 16(5): 365-367.
- [22] 陈标, 满玉蓉, 高柳玲, 等. AMPK 调控能量代谢研究进展[J]. 生物学杂志, 2017, 34(5): 78-82.
- [23] Hwang S K, Kim H H. The functions of mTOR in ischemic diseases[J]. BMB Rep, 2011, 44(8): 506-511.

## **Buguzhi (补骨脂) Alcohol Extract Induces Idiosyncratic Liver Injury in Rat Model of Immune Stress\***

CHEN Xiaofei<sup>1,2</sup>, WANG Xiaoyan<sup>1,2</sup>, LI Weixia<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Hui<sup>1,2</sup>, ZHANG Mingliang<sup>1,2</sup>, WU Yali<sup>1,2</sup>,  
ZHANG Shuqi<sup>1,2</sup>, NI Wenjuan<sup>3</sup>, CHEN Yulong<sup>3</sup>, LI Kun<sup>3</sup>, FENG Keran<sup>3</sup>, TANG Jinfa<sup>1,2,3\*\*</sup>

(<sup>1</sup> The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000; <sup>2</sup> Henan Provincial Key Laboratory for Clinical Pharmacy of Traditional Chinese Medicine, Henan Engineering Research Center for Clinical Application, Evaluation and Transformation of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000; <sup>3</sup> School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046)

**Objective:** To study the mechanism of idiosyncratic liver injury induced by Buguzhi (补骨脂) in the rat model of immune stress. **Methods:** Rats were randomly assigned into a normal control group, a Buguzhi group, a lipopolysaccharide model control group, and a Buguzhi + lipopolysaccharide model group. The rats in Buguzhi group and Buguzhi + lipopolysaccharide model group were orally administrated with the alcohol extract of Buguzhi at a single dose of 3.6 g/kg, and those in the Buguzhi + lipopolysaccharide model group were injected with lipopolysaccharide at a dose of 2.0 mg/kg via tail vein after 2 h. The rats were anesthetized 10 h after lipopolysaccharide injection, and then the blood and liver tissue samples were collected. The serum activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were determined by biochemical methods. Pathological changes were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was employed to determine the serum levels of interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-18, epidermal growth factor (EGF), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), and interferon- $\gamma$  (INF $\gamma$ ). The levels of immunoglobulin G (IgG), IgM, IgE, and complements C3, C4 were determined by an automatic biochemical analyzer. The percentages of immune cell subpopulations in the blood and liver were detected by flow cytometry. The number of immune cells and the protein levels of serine/threonine kinase (LKB1), adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK), and CREB-regulated transcription coactivator 1 (TORC1) involved in energy metabolism in the liver were determined by immunohistochemistry. **Results:** Compared with the normal control group, the modeling with lipopolysaccharide elevated the serum levels of IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, and IL-18 ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), increased the CD4<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>, and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratios in blood ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and up-regulated the protein levels of CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, AMPK, and TORC1 in the liver tissue ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Meanwhile, it lowered the serum level of C4, reduced the lymphocyte count, decreased the CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> ratio in blood and the CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio in the liver, and down-regulated the protein level of LKB1 ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Compared with the

lipopolysaccharide model control group, Buguzhi + lipopolysaccharide enhanced the activities of ALT and AST ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), caused obvious pathological changes in liver sections, elevated the serum levels of IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, and TNF $\alpha$ , and reduced the level of C4 ( $P < 0.05$ ). Furthermore, it decreased the CD8<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> ratio in blood, increased the CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio in blood ( $P < 0.05$ ), increased the CD3<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in the liver tissue ( $P < 0.05$ ), and the up-regulated the protein level of TORC1 in the liver tissue ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Buguzhi may induce idiosyncratic liver injury via the interactions with immune stress and energy metabolism.

**Key words** Buguzhi (补骨脂), Idiosyncratic liver injury, Immune stress, Energy metabolism

