

利福平致肝损伤的毒理机制及中药配伍减毒研究进展

罗细林^{1,2,3}, 覃丽³, 李昕^{1,2*}, 徐兵^{1,2}, 邓阳^{1,2*}, 童煥^{1,2}(1.长沙市第三医院药学部, 长沙 410015; 2.长沙市抗菌药物临床应用研究所, 长沙 410015; 3.湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

摘要: 利福平(rifampicin, RFP)作为一线抗结核药物, 主要经肝脏代谢, 在抗结核治疗过程中常见肝损伤不良反应。目前多种中药显示明确的减毒作用, 但作用机制均未明确。本文从代谢紊乱、氧化应激、炎症、细胞凋亡等方面对 RFP 引起肝损伤的毒理机制进行探讨, 并综述了 RFP 与中药配伍减毒的肝损伤防治研究进展, 以期为临床防治以及相关基础研究的开展提供参考。

关键词: 利福平; 肝损伤; 中药; 减毒; 氧化应激; 细胞凋亡

中图分类号: R969 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)09-1125-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.09.020

引用本文: 罗细林, 覃丽, 李昕, 等. 利福平致肝损伤的毒理机制及中药配伍减毒研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(9): 1125-1132.

Research Progress in Toxicological Mechanisms of Rifampicin-induced Liver Injury and Detoxification Mechanisms of Chinese Herbal Medicine

LUO Xilin^{1,2,3}, QIN Li³, LI Xin^{1,2*}, XU Bin^{1,2}, DENG Yang^{1,2*}, TONG Huan^{1,2}(1.Department of Pharmacy, The Third Hospital of Changsha, Changsha 410015, China; 2.The Clinical Application Research Institute of Antibiotics in Changsha, Changsha 410015, China; 3.School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

ABSTRACT: Rifampicin(RFP) acts as a front-line anti-tuberculosis drug, which is mainly metabolized by the liver, with liver injury as common adverse reactions during anti-tuberculosis treatment. At present, a variety of traditional Chinese medicine shows a clear poison reduction effect, but the mechanism of action is not clear. This paper explores the toxicological mechanism of RFP liver injury from the aspects of metabolic disorder, oxidative stress, inflammation and apoptosis, and reviews the research progress of liver injury prevention and treatment with RFP combined with traditional Chinese medicine in order to provide reference for clinical prevention and treatment and related basic research.

KEYWORDS: rifampicin; liver injury; Chinese herbal medicine; detoxification; oxidative stress; apoptosis

药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)是临床常见的严重不良反应, 已成为全球肝病死亡原因的第五位^[1]。中国 DILI 以 0.0238% 的发生率远高于其他国家, 其中抗结核药物所致 DILI 占全部 DILI 比例的 21.99%^[2]。利福平(rifampicin, RFP)作为抗结核的一线药物, 所致 DILI 与药物剂量密切相关^[3], 一般可预测, 个体差异不显著; 同时 RFP 也表现出与剂量无关、不可预见的特异质肝不良反应, 但仅占全部病例的 1%~3%^[4]。RFP 引起肝损伤的机制目前还不明确, 亟待深入探讨。

中药作为中国传统医学的重要部分, 积累了数千年的临床使用经验, 中药药源地取材广泛, 防治肝损伤具有多靶点的优势, 能够通过改变 RFP

的体内代谢与转运、抑制脂质过氧化和炎症反应, 来减少 RFP 对肝脏的损伤^[5]。本文拟从肝脏代谢、氧化应激、炎症反应、细胞凋亡等角度对 RFP 肝损伤机制进行归纳, 并从中药活性成分、提取物、复方角度分析目前中药配伍 RFP 的减毒机制, 为 RFP 的精准用药、降低不良反应发生率和后续相关实验的开展提供参考。

1 RFP 所致肝损伤发生机制

1.1 药物代谢与 RFP 的肝损伤

1.1.1 I相、II相代谢参与的 RFP 肝损伤 CYP3A4 是肝脏和小肠含量最高的 CYP450 酶, 参与>50% 药物代谢, 也是孕烷 X 受体(pregnane X receptor, PXR)重要的靶基因, RFP 可促进 CYP3A4 和 PXR

基金项目: 湖南省自然科学基金青年基金项目(2019JJ50680); 湖南省科技计划项目(2016SK4008); 湖南省医学会医学科研基金临床药学项目(HMA202001009); 长沙市科技计划项目(kq1801123)

作者简介: 罗细林, 男, 硕士生, 主管药师 Tel: 15526459363 E-mail: luoxilin0213@163.com *通信作者: 李昕, 女, 主任药师, Tel: (0731)85171320 E-mail: naloxone@163.com 邓阳, 男, 主管药师 Tel: (0731)85171320 E-mail: deng14789918527@126.com

表达^[6]。在 Kammerer 等^[7]开展的一项人体原代肝细胞损伤试验中, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ RFP 显著诱导 CYP3A4 的表达。CYP3A4 作用于 RFP 生成去乙酰基 RFP 时发生的去乙酰化代谢反应, 该过程可为异烟肼(isoniazid, INH)的毒性代谢产物乙酰肼的生成提供乙酰基; 而乙酰肼经 CYP2E1 介导的水解后又会生成毒性代谢产物, 引起脂肪变性和谷胱甘肽(glutathione, GSH)耗竭^[5-8]。一般认为 RFP 与 INH 联用可诱导 CYP2E1 表达。Wu 等^[9]对 Wistar 大鼠给药 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ RFP+100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ INH 建立肝损伤模型, 该模型组显示 CYP2E1 mRNA 的表达较空白组显著增加。然而, 在郭丁妮等^[10]的一项探索 RFP+INH 致昆明种小鼠肝毒性研究的结果显示, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ INH 组与 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ RFP+100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ INH 组与正常对照组细胞相比, CYP2E1 酶活性分别升高 15.6%和 17.3%, 而 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ RFP 组 CYP2E1 酶活性无明显变化, 该研究推测 INH 诱导小鼠 CYP2E1 引起肝损伤, 而 RFP 对 CYP2E1 无诱导作用。RFP 对 CYP2E1 表达的诱导作用以及是否由该机制引起肝损伤或增加 INH 的肝毒性仍有待更多的研究开展。

胆固醇 7 α -羟化酶(cholesterol 7-hydroxylase, CYP7A1)是肝细胞合成胆汁酸经典途径唯一限速酶, 主要受小分子异源二聚体伴侣 (small heterodimer partner, SHP) 和法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR)等调控, 发生 DILI 时 CYP7A1 的活性增加。徐永吉等^[11]的小鼠肝损伤研究中, 连续 90 d 对小鼠给药 90 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ RFP 使 CYP7A1 表达增加, 而 30 d 内给药 180 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ RFP 除使小鼠 CYP7A1 表达显著增加以外, 还可诱导 FXR、SHP 增加, 抑制胆盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)表达, 从而导致胆汁淤积性肝损伤。SHP 与 FXR 均与胆汁酸合成密切相关, FXR 可诱导 SHP 的表达, SHP 则可抑制 CYP7A1 与钠离子-牛磺胆酸共转运蛋白(sodium taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP)表达以减少胆汁酸合成。

过氧化物酶体增植物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptor- γ , PPAR- γ)可增加肝脏脂肪酸吸收和引起脂质蓄积。一项研究 PPAR- γ 和 PXR 的相关试验中, Huang 等^[12]以 200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ RFP 分别对 CD-1 雄性小鼠连续灌胃给药 3, 7,

28 d 后建立了不同时间点的肝损伤模型, RFP 显著上调了 PXR 及其下游基因如 PPAR- γ 、CYP3A11、CYP4A10、CYP4A14 等的表达, 研究结果还表明 RFP 引起的 PXR 表达增多可能具有时间依赖性, 随时间延长而增加。RFP 通过上调 PXR, 还可抑制 II 相代谢酶如尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A(UDP-glucuronosyltransferase 1A, UGT1A)与谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)等的表达, 产生高胆红素血症^[13]。

1.1.2 参与 RFP 肝损伤的 III 相转运体 参与 III 相消除途径的转运体, 包括 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp)、多药耐药相关蛋白(multidrug resistance associated proteins, MRPs)、乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)、NTCP 等。P-gp 可促进药物从肝细胞进入胆汁, 但目前表明 RFP 对 P-gp 无显著作用^[14]。MRP1 与 MRP2 主要转运 II 相代谢产物 GSH, 有研究显示 RFP 能抑制 MRP2、BSEP 介导胆汁外排, 减少胆汁酸、胆红素等从肝脏排出, 造成大鼠肝细胞损伤^[15-16]。若 BSEP 受到抑制, 会造成肝细胞内结合胆汁酸、游离胆汁酸等胆汁转运阻滞与胆盐淤积。NTCP 也是重要的胆汁酸转运体, 受核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)信号通路调控, 能重吸收肝肠循环中约 95%胆汁酸重新入肝, 并与 MRP2 共同转运初级胆汁酸进入毛细胆管。在 Yang 等^[17]对 L02 细胞与 Hepa RG 细胞给药 RFP 后建立的细胞损伤模型中, RFP 抑制 L02 细胞的 Nrf2、BSEP、NTCP 表达, 抑制 Hepa RG 细胞的 Nrf2、BSEP、NTCP 表达; 同时, 在 Yang 等^[17]研究的给药 200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ RFP 的小鼠肝损伤模型中, 敲除 Nrf2 基因后, BSEP、NTCP 表达显著下降。而 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ RFP 与 200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ RFP 均显著下调 BSEP、NTCP 的表达^[18], 胆汁酸显著增多。此外胆汁酸和胆红素可被有机阴离子转运多肽(organic anion transporting polypeptide, OATP)诱导上调, 加速胆盐流通, 减少胆汁酸蓄积^[19]。RFP 是公认的 OATP 抑制剂, 但在 Zhang 等^[20]探索 RFP 所致肝损伤的细胞研究中, 结果显示 100, 200, 300, 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ RFP 均诱导 OATP 表达, 研究者考虑为与 RFP 剂量相关的自适应现象。

与 RFP 肝脏代谢相关的部分酶与转移体汇总表见表 1。

表 1 与利福平肝脏代谢相关的部分酶与转运体

Tab. 1 Metabolic enzymes and transporters associated with rifampicin-induced liver injury

代谢酶与转运体		剂量	研究对象	RFP 的作用
I相代谢酶	CYP2E1	100 mg·kg ⁻¹ RFP+ 100 mg·kg ⁻¹ INH	Wistar 大鼠	RFP 与 INH 联用,诱导 CYP2E1 表达并增加 INH 毒性 ^[9]
	CYP3A4	20 μmol·L ⁻¹ RFP	原代人体肝细胞	RFP 诱导 CYP3A4 表达 ^[7]
	CYP7A1	90 mg·kg ⁻¹ 和 180 mg·kg ⁻¹ RFP	昆明小鼠	诱导 CYP7A1 表达,引起胆汁淤积 ^[11]
II相代谢酶	UGT1A	177 mg·kg ⁻¹ 和 442.5 mg·kg ⁻¹ RFP	ICR 小鼠	RFP 抑制 UGT1A 表达,升高胆红素 ^[13]
III相转运体	MRP2	200 mg·kg ⁻¹ RFP; 100 mg·kg ⁻¹ RFP	SD 大鼠	RFP 显著抑制 MRP2 mRNA 表达 ^[15-16]
	BSEP	100 mg·kg ⁻¹ RFP; 200 mg·kg ⁻¹ RFP	大鼠, C57BL/6 小鼠	RFP 抑制 BSEP 表达 ^[19-20]
	NTCP	200 mg·kg ⁻¹ RFP; 100, 200 mg·kg ⁻¹ RFP	C57BL/6 小鼠; ICR 小鼠	RFP 抑制 NTCP 表达 ^[16-17]
	OATP	100, 200, 300, 400 μmol·L ⁻¹ RFP	HepG2 细胞	不同浓度的 RFP 可不同程度诱导 OATP2 的表达 ^[20]

1.2 氧化应激与 RFP 肝损伤

氧化应激是指活性氧(reactive oxygen species, ROS)过量生成与抗氧化功能的失衡,常伴随着细胞凋亡与炎症反应的发生,是 RFP 引起肝损伤的重要机制之一。氧化应激的主要表现为丙二醛(malonaldehyde, MDA)与 GSH 及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的失衡,氧化应激时 MDA 显著升高,而 GSH 与 SOD 可抑制 ROS 启动的脂质过氧化反应^[21]。证据显示 RFP 通过促进 CYP2E1 表达生成大量 ROS,与肝细胞膜上的酶或受体结合,导致细胞代谢紊乱或凋亡^[22]。Cheng 等^[23]研究表明 RFP 能增加细胞凋亡率,降低细胞生存率,增高蛋白激酶 R 样内质网激酶(protein kinase R-like ER kinase, PERK)、活化转录因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)、转录因子 CCAAT 增强子结合蛋白同源蛋白(CCAAT enhancer binding protein homologous protein, CHOP)等基因表达,从而造成肝毒性。

Nrf2 是氧化应激中重要的转录因子,可诱导其下游基因血红素加氧酶-1(heme oxygenase, HO-1)表达,增强抗氧化作用,减低 RFP 对肝细胞的损伤。马磊等^[24]将 Balb/c 小鼠连续 15 d 灌胃 200 mg·kg⁻¹ RFP 建立肝损伤模型,100 μmol·L⁻¹ RFP 给药 24, 48, 72 h 建立 HepG2 细胞损伤模型,动物模型研究中 200 mg·kg⁻¹ RFP 模型组 HO-1 表达比正常组升高,而 RFP 与 HO-1 激动剂 Hemin 联用使 HO-1 过表达后,小鼠肝损伤显著缓解;24, 48, 72 h 细胞试验也显示 100 μmol·L⁻¹ RFP 模型组 HO-1 较正常组表达增强,而 RFP 与 Hemin 联用显著增强 HO-1 表达后,细胞氧化损伤明显缓解。同样,在 Lee 等^[25]建立的给药 30 μmol·L⁻¹ RFP 细胞模型中,HO-1 表达增强,提示 RFP 虽然可引起

肝损伤,但在限定剂量下可能表现护肝作用。

1.3 细胞凋亡与 RFP 肝损伤

RFP 引起肝损伤的相关研究中,由多种机制介导的氧化应激反应可通过线粒体损伤引起细胞凋亡或细胞坏死^[26],细胞凋亡是由基因控制的细胞自主有序的非病理性死亡,主要受 Caspase 蛋白酶和 B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)蛋白家族等相关诱导因子调控^[5]。过量 ROS 可改变线粒体的膜通透性,从而使细胞色素 C 等释放进入细胞质最终引起凋亡。细胞凋亡或坏死后,细胞内容物溢出,引发机体免疫应答产生炎症反应;炎症反应产生的 ROS 炎症介质,进一步诱导细胞发生氧化应激与细胞凋亡^[27]。ROS 在炎症反应中起到第二信使的作用,能够促使炎症反应的发生,而炎症因子也能够进一步增加 ROS 的产生。然而目前 RFP 造成细胞凋亡的机制仍不明确,阐述 RFP 所致肝毒性所涉及的氧化应激、炎症反应与细胞凋亡机制间的关联性,仍需要学者深入探讨。

目前, RFP 所致细胞凋亡与 Bcl-2 和 Bcl2-associated X(Bax)有关,二者是细胞凋亡的标志性蛋白,经线粒体介导, Bax 可诱导细胞凋亡, Bcl-2 则抑制细胞凋亡。RFP/INH 可诱导 Bcl-2 与 Bax 的表达,但减少 Bcl-2/Bax 比例,造成细胞凋亡^[28]。连续 7 d 对小鼠给药 RFP 150 mg·kg⁻¹ 联用 INH 75 mg·kg⁻¹ 后,小鼠 3-硝基酪氨酸(3-nitrotyrosine, 3-NT)表达增强,天冬氨酸特异性蛋白酶-3(Caspase-3)活化, Bax 表达增强, Bcl-2 下降^[29]。以 Balb/c 小鼠建立肝损伤模型,连续 3 d 内分别给予 INH 50 mg·kg⁻¹、RFP 100 mg·kg⁻¹ 以及 INH 50 mg·kg⁻¹+RFP 100 mg·kg⁻¹, INH+RFP 组小鼠的细胞凋亡率和 Caspase-3 表达与对照组相比明显上

调,而 RFP 组与 INH 组则没有明显变化^[30],提示 RFP 与 INH 可能在小鼠肝损伤中存在协同效应,Caspase-3 蛋白与 RFP 所致的细胞凋亡的相关性仍需进一步探索。此外,RFP 和 INH 联用还可诱导凋亡相关因子(factor associated suicide, Fas)表达,介导死亡通路,引起肝细胞大量凋亡^[31]。

相关研究显示细胞凋亡还与 PEAK-ATF4-CHOP 通路有关,敲除 L02 细胞 CHOP 基因时,RFP 细胞凋亡显著下降,存活率则明显上升,以内质网应激抑制剂 4-苯基丁酸钠(4-phenylbutyric acid, 4-PBA)干预 RFP 诱导的肝损伤模型,发现与正常组相比,中、高浓度(200, 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)RFP 模型组细胞的 PERK-ATF4-CHOP 通路的基因与蛋白表达以及细胞凋亡百分率显著升高,抑制 L02 细胞的 PEAK-ATF4-CHOP 通路可能减轻 RFP 肝毒性^[32]。

1.4 炎症反应与 RFP 肝损伤

对 C57BL/6 小鼠静脉注射 Fas 单克隆激动剂抗体后,Fas 通路激活,炎性细胞因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)大量释放,引发肝炎和肝损伤^[33]。TNF- α 由单核巨噬细胞产生,可诱导细胞发生炎症。核因子(nuclear factor, NF) κ B(NF- κ B)属于真核细胞转录因子,对氧化应激非常敏感,NF- κ B 与 TNF- α 、IL-1 β 、ROS 相互激活,加重炎症反应^[34-35]。史哲等^[35]建立的小鼠模型中,与空白组相比,135 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ RFP 实验组小鼠在给药 0, 3, 5, 7, 10, 15 d 后处死,其 NF- κ B 与 TNF- α mRNA 与蛋白表达量出

现先升高后降低的趋势,表现为 0, 3, 5, 7 d 随着时间的延长, mRNA 与蛋白表达均递增,7 d 表达量达到峰值后逐步下降,15 d 降到谷值。该研究认为 RFP 可激活 NF- κ B 造成肝损伤,但 RFP 本身的免疫作用可抑制 NF- κ B 的激活,提示 RFP 的肝保护可能与之相关,也亟需进一步探讨 RFP 所致肝损伤与 TNF- α 、NF- κ B 的关系。RFP 引起肝损伤的主要可能机制见图 1。

2 中药配伍 RFP 的减毒作用

2.1 与 RFP 配伍减毒的中药活性成分

2.1.1 多糖类 多糖广泛存在于动植物中,与 RFP 一起应用时,可能通过减少细胞凋亡、炎症反应、氧化应激等机制保护肝脏。

如慈姑多糖富含于药食兼用的水生草本植物慈姑,可通过抑制 RFP 对 CYP2E1 和 CYP3A4 的诱导保护肝脏,还可以清除自由基、抗脂质过氧化,如通过调控 Nrf2/ARE 信号通路,增加 Nrf2 和 HO-1 的表达,发挥抗氧化作用。此外还可以通过调节小鼠的 Bax、Bcl-2 基因和蛋白的表达,抑制 INH 联用 RFP 诱导的细胞凋亡^[25]。

狗肝菜是中国西南的常用药材,富含多糖。有研究表明,探索狗肝菜多糖对 SPF 级昆明种小鼠给药 RFP 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ +INH 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 所致肝损伤的保护作用时,狗肝菜多糖可抑制抗结核药物引起的谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、一氧化氮(nitric oxide, NO)异常升高,减少炎症反应和细胞毒性^[36]。

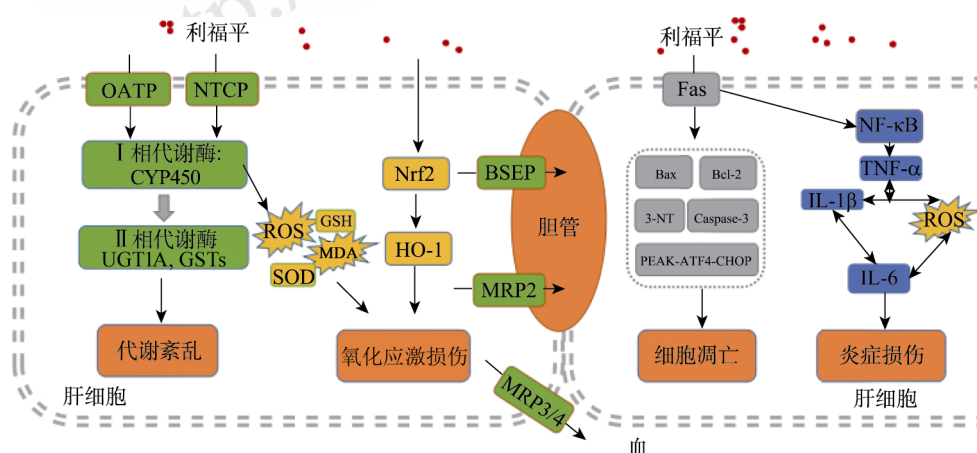


图 1 利福平肝损伤机制

Fig. 1 Hepatotoxicity mechanism of rifampicin

海藻多糖源自海藻, Wistar 雄性大鼠给药 RFP 100 mg·kg⁻¹+INH 100 mg·kg⁻¹, 海藻多糖能上调 NTCP 的表达, 增加胆盐与胆汁酸的排泄, 减轻氧化应激^[37]。

2.1.2 黄酮类 黄酮类化合物是一类来源广泛的天然化合物, 对 DILI 疗效显著, 其机制包括抑制氧化应激, 改善脂质代谢, 减轻线粒体损伤, 诱导细胞凋亡, 调节信号通路等^[38]。

杠板归是药食兼用的一年生草本, 其活性成分总黄酮具有免疫调节作用, 可阻断细胞凋亡通路及炎症反应。研究表明, 模型组的 TNF- α 和 IL-6 表达明显高于正常肝组织, Fas 的水平上调, 而杠板归总黄酮可显著下调过高的 Fas 蛋白、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β , 从而发挥保护肝脏的作用^[39]。

丹参酮是中药丹参的脂溶性活性成分, 具有抗氧化、抗纤维化、保肝等作用, 可以激活 Nrf2 信号通路, 诱导 BSEP 表达, 并上调 BSEP 的转运能力, 促进细胞的胆汁排泄水平回升, 明显上调 BSEP 的胆汁排泄系数, 升高程度与丹参酮IIA 剂量相关^[40]。

槲皮素也是黄酮类化合物, 其护肝作用可能与抑制脂质过氧化反应有关。对雄性 Wistar 大鼠连续 4 周给药 RFP 75 mg·kg⁻¹+INH 75 mg·kg⁻¹ 建立肝损伤模型, 槲皮素可以降低肝脏 MDA, 升高 GSH、SOD 水平, 改善组织病变程度^[41]。

2.1.3 多酚类 白藜芦醇是葡萄、桑葚、菠萝、虎杖、花生多种植物中的多酚类化合物, 可激活 PPAR- γ , 抑制 TNF- α 等, 减低 RFP 的氧化应激所致的肝损伤。对 Wistar 大鼠连续 28 d 灌胃给药 RFP 150 mg·kg⁻¹+INH 100 mg·kg⁻¹ 建立肝损伤模型, 模型组 PPAR- α mRNA 显著降低, TNF- α 水平显著升高, IL-10 浓度显著降低, 白藜芦醇可明显对抗该作用^[42]。

2.1.4 羟基蒽醌类 茜草素是从茜草的根部提取的具有护肝、免疫调节等作用的羟基蒽醌类化合物, 可通过提高细胞线粒体呼吸链酶、SOD、Na⁺-K⁺-ATP 酶及 Ca²⁺-ATP 酶的活性, 降低 MDA 含量, 抑制线粒体的脂质过氧化, 减轻氧化应激所致肝损伤。对 SPF 小鼠连续 14 d 给药 RFP 165 mg·kg⁻¹ 建立肝损伤模型, 茜草素可显著改善小鼠肝功能, 减少小鼠肝细胞 MDA 含量, 升高线粒体 SOD 和 GSH-PX 活性, 提高清除自由基能力,

减少肝损伤^[43]。

2.1.5 其他 还有很多其他防治 RFP 所致 DILI 的中药, 不一而足。较常见的如复方甘草酸苷与 RFP 联用时, 复方甘草酸苷可缓解免疫炎症反应对肝细胞的损伤作用, 明显改善 RFP 所致肝损伤^[44]。五味子是中国药典记载的抗氧化、抗肿瘤、抗炎、护心、护肝药物, 可激活 Nrf2/ARE 信号通路, 调控药物代谢酶和转运体如 P-gp、MRP2、OATP 等^[45], 还可提高线粒体内 GSH 表达, 并能抑制内质网氧化应激^[23]。在一项对 Balb/c 小鼠 RFP 75 mg·kg⁻¹+INH 100 mg·kg⁻¹ 肝损伤研究中, 竹节参总皂苷可能通过抗脂质过氧化起到对 RFP+INH 合用所致肝损伤的明显保护作用^[46]。

2.2 与 RFP 配伍减毒的中药提取物

柳茶主要产于中国甘肃、青海、四川等地, 常以叶和嫩枝入药, 治疗关节炎、腹部胀痛、消化不良及胃病等^[47]。对昆明种小鼠静脉给药连续 10 d, 建立 RFP+INH 小鼠肝损伤模型, RFP 100 mg·kg⁻¹+INH 100 mg·kg⁻¹ 的肝损伤实验组肝系数、血清生化检测、肝脏 MDA 升高, SOD、谷胱甘肽过氧化物酶降低, 而柳茶提取物有效改善 RFP+INH 所致肝损伤^[48]。

李冰等^[49]对 RFP 联用 INH 诱导 Balb/c 小鼠肝损伤模型中, 分别选择慈姑水提部位 (200, 400, 800 mg·kg⁻¹) 为慈姑水提部位低、中、高剂量试验组, 研究表明, 3 个试验组与 RFP 100 mg·kg⁻¹+INH 100 mg·kg⁻¹ 模型组相比, 肝损伤改善, MDA 含量降低, GSH 含量升高, 差异有显著意义, 且慈姑水提部位改善肝功能的情况呈明显的剂量依赖性。

酸豆提取物对于 RFP 与 INH 联用的肝损伤有明显防护作用, 可显著改善肝功能与肝组织病理。其机制主要与清除 ROS 相关, 在饮食中添加酸豆提取物, 可能防护抗结核药物所致肝损伤, 但明确其阐述机制需展开更多的研究^[50]。

2.3 与 RFP 配伍减毒的中药复方制剂

中药复方是以中医理论为基础, 选择多味中药按照一定的比例进行配伍而制成的方剂。由柴胡、白术、茯苓、黄芩、白芍、甘草、百部、茵陈蒿、鸡内金等药组成的中药复方保肝抗痔汤能够明显降低 RFP 和 INH 所致肝损伤。与模型对照组相比, 保肝抗痔汤高、低剂量组的血清 ALT 及

AST 均明显降低($P<0.01$), 血清 ALT、AST 及肝系数均明显降低($P<0.01$)^[51]。

以加味一贯煎治疗 RFP 和 INH 肝损伤模型的研究中, 在一贯煎复方的基础上加入了白芍、丹参、山楂等, 补阴血、舒肝气。加味一贯煎高、中、低剂量组大鼠血清 ALT, AST, 肝组织匀浆中 MDA 与模型组相比显著减低, 可一定程度改善 RFP/INH 所致肝损伤且改善程度与剂量之间不存在量效关系^[52]。

丁亮等^[53]以护肝益肺方的水提取物对 RFP 与 INH 引起的肝损伤建立了小鼠模型进行研究, 生化检测与病理检查的结果显示护肝益肺方全方及护肝方(拆方)显著降低 RFP+INH 所致 ALP 和 TBIL 升高的水平, 显著升高肝损伤模型组 SOD、GSH 降低的水平, 抑制 MDA 的升高。该结果与肝益肺方药部分中药能降低小鼠 DILI, 具有保护肝细胞功能的报道相符, 也为中药配伍防治结核病提供了更多的实验依据。

出现不良反应后, 先停药依然是主要措施, 但中止用药又会使抗结核的治疗和控制难上加难。因此, 以 RFP 等抗结核药为基础药物, 配伍其他有效保护肝脏减低 DILI 发生的药物, 成为抗结核治疗的新选择。随着越来越多的药用植物得到研究, 中药防治 RFP 所致肝损伤的保肝护肝机制将不断深入。

3 展望

综上, RFP 的肝损伤给临床治疗带来诸多困扰, 其机制是多信号通路交互影响的结果。同时也有不少研究表明 RFP 具有肝保护作用, 因此 RFP 肝毒性与肝保护的发生可能具有量/时-效与量-毒关系。此外, RFP 的肝毒性与肝保护下对肠道、肝脏的药物代谢酶和转运体的影响、“代谢-转运”与氧化应激、细胞凋亡与炎症之间的互作关系等问题仍需进一步深入研究。中国具有丰富的中药资源, 在辨证施治的合理使用下, 不良反应较少, 显示较好的肝保护作用 and 防治应用前景。因此, 在抗 RFP 肝毒性的研究中, 通过系统的药理学、毒理学以及分子生物学手段阐明中药抗 RFP 肝毒性的主要活性成分和作用靶点, 对于降低 RFP 的肝毒性发生率、抗肝毒性创新药物研发以及推动中国中药现代化具有重要的研究意义和社会价值。

REFERENCES

- [1] Chinese Society of Clinical Oncology(CSCO), Chinese Society of Hematology(CSH), Union For China Lymphoma Investigators(UCL). Expert panel consensus statement on prevention and standardized treatment of drug-induced liver injury in patients with blood diseases(2016)[J]. Chin J Hematol(中华血液学杂志), 2016, 37(6): 441-452.
- [2] SHEN T, LIU Y, SHANG J, et al. Incidence and etiology of drug-induced liver injury in mainland China[J]. Gastroenterology, 2019, 156(8): 2230-2241.
- [3] LUO X L, DU Q, DENG Y, et al. Establishment of rifampicin-induced liver injury model in mice and evaluation of nephrotoxicity[J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2020, 36(11): 1488-1491.
- [4] Chinese Society of Tuberculosis. Guidelines for the diagnosis and treatment of antituberculous liver injury[J]. Chin J Tuberc Respir Dis(中华结核和呼吸杂志), 2019(42): 343-356.
- [5] WANG J. Protective effect of cigu polysaccharide on hepatocyte HepG2 induced by INH/RFP and its mechanism [D]. Beijing: Beijing university of Chinese medicine, 2018.
- [6] SUN H Y, YAN Y J, LI Y H, et al. Reversing effects of ginsenosides on LPS-induced hepatic CYP3A11/3A4 dysfunction through the pregnane X receptor[J]. J Ethnopharmacol, 2019(229): 246-255.
- [7] KAMMERER S, KÜPPER J H. Optimized protocol for induction of cytochrome P450 enzymes 1A2 and 3A4 in human primary-like hepatocyte cell strain HepaFH₃ to study *in vitro* toxicology[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2018, 70(4): 563-571.
- [8] WU X, LIU C L, XUE G, et al. Association between Chinese CYP2E1 polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced liver injury: A meta analysis[J]. Chin J Clin: Electron Ed(中华临床医师杂志: 电子版), 2017, 11(7): 1147-1152.
- [9] WU Z R, BAI Z T, SUN Y, et al. Protective effects of the bioactive natural product *N*-trans-caffeoyldopamine on hepatotoxicity induced by isoniazid and rifampicin[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2015, 25(22): 5424-5426.
- [10] GUO D N. Study on the mechanisms of hepatotoxicity induced by isoniazid and rifampicin and the hepatoprotective effect of selective inhibitors of CYP450 in mouse hepatocytes[D]. Hebei: Hebei Medical University, 2010.
- [11] XU Y J, LI W K, LIU J, et al. Effects of rifampicin on hepatotoxicity and genes related to bile acid metabolism in mice[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2016, 32(6): 841-845.
- [12] HUANG J H, ZHANG C, ZHANG D G, et al. Rifampicin-induced hepatic lipid accumulation: Association with up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ in mouse liver[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0165787. Doi: 10.1371/journal.pone.0165787.
- [13] KIM J H, NAM W S, KIM S J, et al. Mechanism investigation of rifampicin-induced liver injury using comparative toxic proteomics in mice[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(7): E1417. Doi: 10.3390/ijms18071417.
- [14] FEI T, SHAO Y C, YAN Z Q, et al. The effects of P-gp and CYP450 modulated by rifampicin on the steroid-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. J Bone Miner Metab,

- 2017, 35(5): 504-512.
- [15] YE X L, WANG L, JIANG X H. Protective effects and mechanism of Anethole trithione on the rats with drug-induced liver injury caused by rifampicin[J]. West China J Pharm Sci(华西药理学杂志), 2018, 33(5): 501-503.
- [16] AI Y W. Study the effects of Wuzhi capsule and its quality control ingredient, schisandrin A, on cholestatic liver injury [D]. Guangdong: Southern Medical University, 2016.
- [17] YANG Y, LIU L, ZHANG X, et al. Tanshinone IIA prevents rifampicin-induced liver injury by regulating BSEP/NTCP expression via epigenetic activation of NRF2[J]. Liver Int, 2020, 40(1): 141-154.
- [18] XU X F. Effect of isoniazid and rifampicin on expression of bile acid transporters NTCP and BSEP in mice[D]. Hunan: Central South University, 2014.
- [19] MUCHOVA L, VANOVA K, SUK J, et al. Protective effect of heme oxygenase induction in ethinylestradiol-induced cholestasis[J]. J Cell Mol Med, 2015, 19(5): 924-933.
- [20] ZHANG W P, CHEN L H, FENG H, et al. Rifampicin-induced injury in HepG2 cells is alleviated by TUDCA via increasing bile acid transporters expression and enhancing the Nrf2-mediated adaptive response[J]. Free Radic Biol Med, 2017(112): 24-35.
- [21] WU T, SHEN M Y, LIU S H, et al. Ameliorative effect of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides against carbon tetrachloride induced oxidative stress in liver and kidney of mice[J]. Food Chem Toxicol, 2020(135): 111014. Doi: 10.1016/j.fct.2019.111014.
- [22] RAMAPPA V, AITHAL G P. Hepatotoxicity related to anti-tuberculosis drugs: Mechanisms and management[J]. J Clin Exp Hepatol, 2013, 3(1): 37-49.
- [23] CHENG L, YANG Z Z, SUN Z R, et al. Schizandrin B mitigates rifampicin-induced liver injury by inhibiting endoplasmic Reticulum stress[J]. Biol Pharm Bull, 2020, 43(1): 145-152.
- [24] MA L. Research on the protective effects of hemeoxygenase-1 against hepatotoxicity induced by rifampicin[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2016.
- [25] LEE E H, BAEK S Y, PARK J Y, et al. Rifampicin activates AMPK and alleviates oxidative stress in the liver as mediated with Nrf2 signaling[J]. Chem Biol Interact, 2020(315): 108889. Doi: 10.1016/j.cbi.2019.108889.
- [26] MOUSSAVIAN M R, LASCHKE M W, SCHLACHTENBERGER G, et al. Perigraft vascularization and incorporation of implanted Dacron prostheses are affected by rifampicin coating[J]. J Vasc Surg, 2016, 64(6): 1815-1824.
- [27] YANG J. Protective effects of Medium-chain fatty acids on drug-induced liver injury[D]. Jiangxi: Nanchang University, 2020.
- [28] HAN Y, WANG J, ZHANG Y Y, et al. Protective effects of sagittaria sagittifolin polysaccharide on isoniazid/rifampicin-induced apoptosis of mouse liver cells[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2019, 42(2): 126-130.
- [29] CHEN X, XU J, ZHANG C, et al. The protective effects of ursodeoxycholic acid on isoniazid plus rifampicin induced liver injury in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 659(1): 53-60.
- [30] CHOWDHURY A, SANTRA A, BHATTACHARJEE K, et al. Mitochondrial oxidative stress and permeability transition in isoniazid and rifampicin induced liver injury in mice[J]. J Hepatol, 2006, 45(1): 117-126.
- [31] SUKHANOV D S, BAZHANOVA E D, TEPLYĀ D L. Role of hepatoprotectors and immunomodulators in regulation of hepatocyte apoptosis induced by antituberculosis treatment[J]. Vestn Ross Akad Med Nauk, 2013(8): 45-48, 50.
- [32] ZHANG W, CHEN L, SHEN Y, et al. Rifampicin-induced injury in L02 cells is alleviated by 4-PBA via inhibition of the PERK-ATF4-CHOP pathway[J]. Toxicol in Vitro, 2016(36): 186-196.
- [33] UTAIPAN T, OTTO A C, GAN-SCHREIER H, et al. Ursodeoxycholyt lysophosphatidylethanolamide protects against CD95/FAS-induced fulminant hepatitis[J]. Shock, 2017, 48(2): 251-259.
- [34] RAJAKUMAR D, SENGUTTUVAN S, ALEXANDER M, et al. Involvement of oxidative stress, nuclear factor kappa B and the ubiquitin proteasomal pathway in dysferlinopathy[J]. Life Sci, 2014, 108(1): 54-61.
- [35] SHI Z. First-line anti-tuberculosis drug-induced liver injury in mice on the NF-κB expression in liver cells[D]. Hebei: North China University of Science and Technology: 2015.
- [36] GAO Y, ZHONG M L, ZHONG J L, et al. Study of *Dicliptera chinensis* polysaccharide in counteracting liver injury induced by antituberculosis drugs[J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报), 2014, 31(6): 953-956, 1032.
- [37] FANG Y X, ZHAO J, ZHANG G Q, et al. Protective effects of seaweed polysaccharide on isoniazid and rifampicin induced liver injury rats[J]. J Lanzhou Univ: Med Sci(兰州大学学报: 医学版), 2017, 43(4): 23-27.
- [38] HE G X, CHEN H G, DENG Q F, et al. Research progress of hepatoprotective mechanism of flavonoids[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(12): 1583-1591.
- [39] XI B T, ZHU M L, GAO Y, et al. Protective effect and mechanism of total flavonoids extracted from *Polygonum perfoliatum* L. on liver injury induced by antituberculosis drug in mice[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2017, 33(5): 51-54.
- [40] LIU L, YANG Y J, WANG L, et al. In "sandwich" training studies in the rat primary hepatocytes rifampicin and combination of tanshinone II A impact on pravastatin via BSEP[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2019, 35(7): 978-985.
- [41] WEI L, ZHAO C J. Protective effects and mechanisms of quercetin on hepatic injury induced by isoniazid combined with rifampicin in mice[J]. China Pharm(中国药业), 2017, 26(16): 9-12.
- [42] SONG J Q. The protective effects of resveratrol on liver injury induced by isoniazid and rifampicin in rats and its mechanism [D]. Shandong: School of Public Health, Medical Science Department, Qingdao University, 2018: 1-24.
- [43] DING T. Study on Alizaiin combined with standard anti-tuberculosis chemical therapy in treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis[D]. Zhejiang: Zhejiang Chinese Medical University: 2017.
- [44] NIU S M, ZHANG C, QIAN Z L. Pharmaceutical monitoring and clinical evaluation of compound glycyrrhizin in the

- treatment of drug-induced liver injury by rifampicin[J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2018, 32(5): 647-650.
- [45] HE J L, ZHOU Z W, YIN J J, et al. *Schisandra chinensis* regulates drug metabolizing enzymes and drug transporters via activation of Nrf2-mediated signaling pathway[J]. Drug Des Devel Ther, 2015(9): 127-146.
- [46] HUO Y X, ZHANG C C, WANG W Q, et al. Protective effects of total saponins of *Panax japonicus* on mice liver injury induced by isoniazid and rifampicin[J]. China Pharm(中国药房), 2013, 24(47): 4417-4421.
- [47] WU Y, DENG W R, HE H, et al. Effect of extracts of *Sibrea angustata* (Rchd.) hand-mazz. on the enzyme activity and mRNA expression of CYP2E1 in mice with isoniazid-induced liver injury[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(7): 795-799.
- [48] WU Y, WU S M. Protective effects of extracts of *Sibrea angustata* on hepatic injury induced by combining isoniazid with rifampicin in mice[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2010, 30(19): 1660-1663.
- [49] LI B, WANG C G, WANG J, et al. Water extract from *Sagittaria sagittifolia* on hepatic injury induced by Co-administration of isoniazid and rifampicin[J]. Jilin J Tradit Chin Med(吉林中医药), 2016, 36(8): 818-821.
- [50] AMIR M, KHAN M A, AHMAD S, et al. Ameliorating effects of *Tamarindus indica* fruit extract on anti-tubercular drugs induced liver toxicity in rats[J]. Nat Prod Res, 2016, 30(6): 715-719.
- [51] SUN Q. The research on TCM compound by antituberculosis medication treatment of liver damage[D]. Jiangsu: Nanjing University of Chinese Medicine: 2010.
- [52] CHUN C W, CHEN J T. Effect of Jiawei Yiguan Jian on hepatic injury in rats induced by antituberculosis drugs[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(15): 201-204.
- [53] DING L, WU Q H, LING M, et al. Study on the protective effect of Huguang Yifei Recipe on anti-tuberculosis-induced liver injury in mice[J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2020, 24(2): 237-241, 425.
- 收稿日期: 2020-08-05
(本文责编: 陈怡心)