



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.07.009  
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2023.07.009  
China Journal of General Surgery, 2023, 32(7):1045-1052.

· 基础研究 ·

## 对乙酰氨基酚活化巨噬细胞HO-1/ROS途径诱导急性肝损伤的实验研究

李婧玉<sup>1</sup>, 李忠莎<sup>1</sup>, 李月<sup>1</sup>, 魏思萌<sup>1</sup>, 李琦<sup>2</sup>, 陈畅<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨医科大学附属第四医院 药学部调剂科, 黑龙江 哈尔滨 150001; 2. 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 生物治疗中心, 黑龙江 哈尔滨 150081)

### 摘要

**背景与目的:** 对乙酰氨基酚 (APAP) 是一种安全有效的退热镇痛抗炎药, 但过量使用会迅速引发急性肝损伤和肝功能衰竭, 从而导致患者死亡或需要进行肝移植。研究表明, 巨噬细胞在维持肝脏稳态以及调控急性肝损伤的进展中发挥着重要作用, 因此, 本研究探讨巨噬细胞功能变化在 APAP 所致急性肝损伤中的作用与机制。

**方法:** 将 BALB/c 雌性小鼠随机分为对照组 (生理盐水灌胃)、药物性肝损伤模型组 (APAP 组, 600 mg/kg APAP 灌胃)、药物性肝损伤模型+巨噬细胞清除剂氯膦酸盐脂质体 (CL) 组 (APAP+CL 组, APAP 灌胃前 12 h 尾静脉注射 CL)。APAP 灌胃 3 h 后收集各组小鼠血清和肝脏组织标本。检测血清中碱性磷酸酶 (ALP)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 和天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 水平。观察肝脏组织病理改变, 检测肝组织中活性氧 (ROS) 水平与血红素氧化酶 1 (HO-1) 表达。将 RAW246.7 细胞分别用 APAP 和 APAP+HO-1 抑制剂锌原卟啉 IX (ZnPPiX) 孵育后, 以无处理的 RAW246.7 细胞为对照, 观察细胞 ROS 水平与 HO-1 表达的变化。

**结果:** 动物实验结果显示, 与对照组比较, APAP 组肝脏出现明显肝损伤病理改变, 血清 ALP、ALT 和 AST 明显升高, 肝组织 ROS 水平与 HO-1 表达明显升高; APAP+CL 组以上指标的变化均被明显抑制, 所有定量指标的差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。细胞实验结果显示, APAP 孵育后, RAW246.7 细胞的 ROS 水平与 HO-1 表达明显升高, 而同时用 ZnPPiX 孵育, APAP 诱导的 ROS 水平与 HO-1 表达升高被明显抑制 (均  $P < 0.05$ )。

**结论:** APAP 可能通过诱导 HO-1 表达促进巨噬细胞 ROS 生成, 从而导致急性肝损伤, 对该途径的干预是临床急性肝损伤防治的新思路。

### 关键词

化学性与药物性肝损伤; 醋氨酚; 巨噬细胞; 血红素氧化酶-1; 活性氧; 氧化应激

中图分类号: R657.3

## Acetaminophen-induced acute liver injury through activation of HO-1/ROS pathway in macrophages

LI Jingyu<sup>1</sup>, LI Zhongsha<sup>1</sup>, LI Yue<sup>1</sup>, WEI Simeng<sup>1</sup>, LI Qi<sup>2</sup>, CHEN Chang<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacology, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China; 2. The Biotherapy Center, Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150081, China)

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (81970382)。

**收稿日期:** 2023-02-01; **修订日期:** 2023-03-31。

**作者简介:** 李婧玉, 哈尔滨医科大学附属第四医院药师, 主要从事肝脏损伤方面的研究。

**通信作者:** 陈畅, Email: chen213chang@163.com

**Abstract**

**Background and Aims:** Acetaminophen (APAP) is a safe and effective antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory drug. However, excessive use of APAP can rapidly induce acute liver injury and liver failure, leading to patient death or the need for liver transplantation. Studies have shown that macrophages are essential in maintaining liver homeostasis and regulating the progression of acute and chronic liver injuries. Therefore, this study investigated the role and mechanisms of macrophage functional changes in APAP-induced acute liver injury.

**Methods:** Male BALB/c mice were randomly divided into the control group (gavage with normal saline), drug-induced liver injury model group (APAP group, 600 mg/kg APAP gavage), and drug-induced liver injury model plus macrophage depletion agent clodronate liposomes (CL) group (APAP+CL group, intravenous injection of CL 12 h before APAP gavage). After 3 h of APAP gavage, serum and liver tissue samples were collected from each group of mice. The serum levels of alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) were measured. Liver tissue pathological changes were observed, and the levels of reactive oxygen species (ROS) and heme oxygenase-1 (HO-1) expression in the liver tissue were detected. RAW246.7 cells were cultured with APAP or APAP plus HO-1 inhibitor zinc protoporphyrin IX (ZnPP IX) using untreated RAW246.7 cells as a control. Then, the changes in cellular ROS levels and HO-1 expression were observed.

**Results:** The results of the animal experiment showed that compared to the control group, the APAP group exhibited significant pathological changes in the liver, with significant increases in serum levels of ALP, ALT, and AST, as well as elevated levels of ROS and HO-1 expression in liver tissue. However, in the APAP+CL group, these changes were significantly suppressed, and the differences in all quantitative indicators were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). The cell experiment results showed that ROS levels and HO-1 expression in RAW246.7 cells were significantly increased after incubation with APAP. However, when co-incubated with ZnPP IX, the APAP-induced ROS levels and HO-1 expression elevation were significantly inhibited (all  $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** APAP may promote macrophage ROS generation by inducing HO-1 expression, causing acute liver injury. Intervention targeting this pathway may provide a new approach to preventing and treating clinical acute liver injury.

**Key words**

Chemical and drug induced liver injury; Acetaminophenol; Macrophages; Heme oxidase 1; Reactive oxygen species; Oxidative Stress

**CLC number:** R657.3

药物性肝损伤是指由各类化学药物和保健品等对肝脏直接产生的损伤，是导致急性肝衰竭 (acute liver failure, ALF) 的常见原因<sup>[1-3]</sup>。对乙酰氨基酚 (paracetamol, APAP) 是临床常用药物，研究<sup>[4]</sup>发现大量摄入 APAP 后通过肝细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP) 途径诱导 N-乙酰苯醌亚胺 (N-acetyl-p-benzoquinone imine, NAPQI) 生成，进而耗竭肝脏还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 并最终诱发肝细胞死亡。巨噬细胞属于肝脏固有免疫细胞<sup>[5]</sup>，肝巨噬细胞由驻留在肝脏的 Kupffer 细胞 (Kupffer cell, KC) 和单核细胞来源的巨噬细胞

组成，在维持肝脏稳态以及调控急慢性肝损伤的进展中发挥着重要作用<sup>[6]</sup>。研究<sup>[7]</sup>发现巨噬细胞功能改变在由药物引起的肝损伤过程中起着重要的作用。除此之外，巨噬细胞与中性粒细胞间的相互作用通过促细胞因子释放进而参与肝损伤<sup>[8]</sup>。

目前由药物所引起的肝毒性在诊断及治疗上均面临巨大的困难<sup>[9-11]</sup>，主要包括有治疗药物少，致病机制不明等方面。本研究旨在探讨巨噬细胞调控在 APAP 导致的急性肝损伤中的作用机制，为预防和治疗 APAP 导致的急性肝损伤提供新的治疗

靶点和治疗方案,也为进一步的药物开发提供理论依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 实验动物

健康雄性 SPF 级 BALB/c 小鼠 30 只,体质量 25~30 g,购自哈尔滨医科大学附属第二医院实验动物中心,实验动物生产许可证号:SCXK(黑)2019-001,实验动物使用许可证号:SYXK(黑)2019-001,实验动物饲料生产许可证号:SCXK(京)2014-0008。本实验通过哈尔滨医科大学附属肿瘤医院伦理委员会批准(批件号:KY2016-16)。实验动物饲养于屏障级动物房,环境室温(22±2)℃,相对湿度40%~70%,12 h昼夜交替。

### 1.2 主要试剂

99%纯度 APAP 购买于上海麦克林生化科技有限公司;丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)检测试剂盒(货号 BC1555)和天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)检测试剂盒(货号 BC1565)均购自北京索莱宝科技有限公司;碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)购自南京建成生物工程研究所(货号 A059-1-1);血红素氧化酶 1(hemeoxygenase1, HO-1)购自 Proteintech 公司(Cat#10701-1-Ap);巨噬细胞清除剂氯膦酸盐脂质体(clodronate liposomes, CL)购自上海舜纳生物科技有限公司。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 动物模型制备** 雄性 BALB/c 小鼠常规饲养后,随机分为对照组(5只),药物性肝损伤模型组(APAP组)(10只),药物性肝损伤模型+CL组(APAP+CL组)(10只)。对照组给予生理盐水;APAP组按照 600 mg/kg 给予 APAP 灌胃;APAP+CL组于实验前 12 h 通过鼠尾静脉注射(125 μL/只)。APAP 灌胃 3 h 后,处死动物,分离血清及肝组织。

**1.3.2 组织病理学染色** 给予 APAP 后,分离实验动物肝组织。4%中性甲醛溶液固定 24 h 后,利用美国 ThermoFisher Scientific 公司 Excelsior AS 全自动组织脱水机制备石蜡组织样本。二甲苯中脱石蜡,95%乙醇脱二甲苯,Gemini AS 自动染色机苏木素染色 3 min,自来水冲洗后伊红染色 3 min,梯度乙醇脱水,以二甲苯透明,中性树脂封片,置于显微镜下进行组织形态观察。

**1.3.3 酶联免疫吸附测定(ELISA)** 给予 APAP 灌胃 3 h、眼眶取血后,4℃条件下 3 000 r/min 速度离心 10 min,收集上层血清,于-80℃保存。采用 ELISA 测定血清中 ALP,ALT 和 AST 含量。

**1.3.4 细胞培养与处理** RAW246.7 细胞(小鼠单核巨噬细胞)复苏后,采用 DMEM 培养基(含 10% 热灭活 FBS、谷氨酰胺 2 mmol/L、链霉素 100 g/L、青霉素 100 U/mL)于 37℃,5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养。观察细胞生长,每 2~3 天更换 1 次。待细胞生长平稳后,预孵育 HO-1 抑制剂锌原卟啉 IX(zinc protoporphyrin IX, ZnPPIX) 10 μM<sup>[12]</sup>。1 h 后给予 APAP 处理细胞。

**1.3.5 Western blot 检测** 用含有 1% 蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液裂解细胞获取蛋白质样品。在 4℃,13 500 r/min 离心 15 min,转移含有蛋白质的上清。使用美国 Bio-Rad 公司 BCA 蛋白检测试剂盒检测蛋白浓度。取 50 μg 蛋白样品通过 SDS-PAGE 电泳法分离,恒定电流下转移至硝酸纤维素膜(NC膜)。用含有 5% 脱脂牛奶的 TBS 封闭后,在 4℃条件下一抗孵育过夜(HO-1, 1:1 000)。用含有 0.1% TWEEN20 的 PBS(PBST)洗涤后,与二抗(1:10 000)避光室温孵育 1 h。用 Odyssey v3.0 软件对条带密度进行量化处理。

**1.3.6 活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测** 采用 ROS 试剂盒测定组织 ROS 水平。样本经 10 μmol/L 二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)37℃避光孵育 20 min,然后用 PBS 清洗 3 次,以去除残留的探针。DCFH-DA 经非特异性酯酶在细胞内水解,经氧化剂氧化形成荧光化合物 2,7-二氯荧光素(DCF)。用荧光显微镜检测 DCF 的荧光信号强度。激发波长为 488 nm,发射波长为 525 nm。荧光强度反映 ROS 水平。

### 1.4 统计学处理

通过 SPSS 20.0 软件进行统计分析,数据以平均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 肝脏组织病理学观察结果

大体标本观察结果显示,对照组小鼠肝脏呈暗红色,边缘光滑且弹性良好。给予 APAP 灌胃 3 h 后,APAP 组动物肝脏表面明显黑化,并伴有肝

脏质地粗糙及弹性差等改变。预先耗竭巨噬细胞后明显拮抗由APAP所引起的肝脏黑化（肝表面土黄色，边缘光滑且弹性良好）（图1A）。HE染色结果显示，对照组肝小叶结构完整，清晰易辨认，肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列，小叶间

静、动脉及小叶间胆管结构完整；APAP组可见广泛肝细胞凝固性坏死，肝脏细胞间质及肝小叶中央静脉内存在大量红细胞淤积；预先清除巨噬细胞（APAP+CL组）明显抑制由APAP所引起的组织间隙充血及肝细胞凝固性坏死（图1B）。

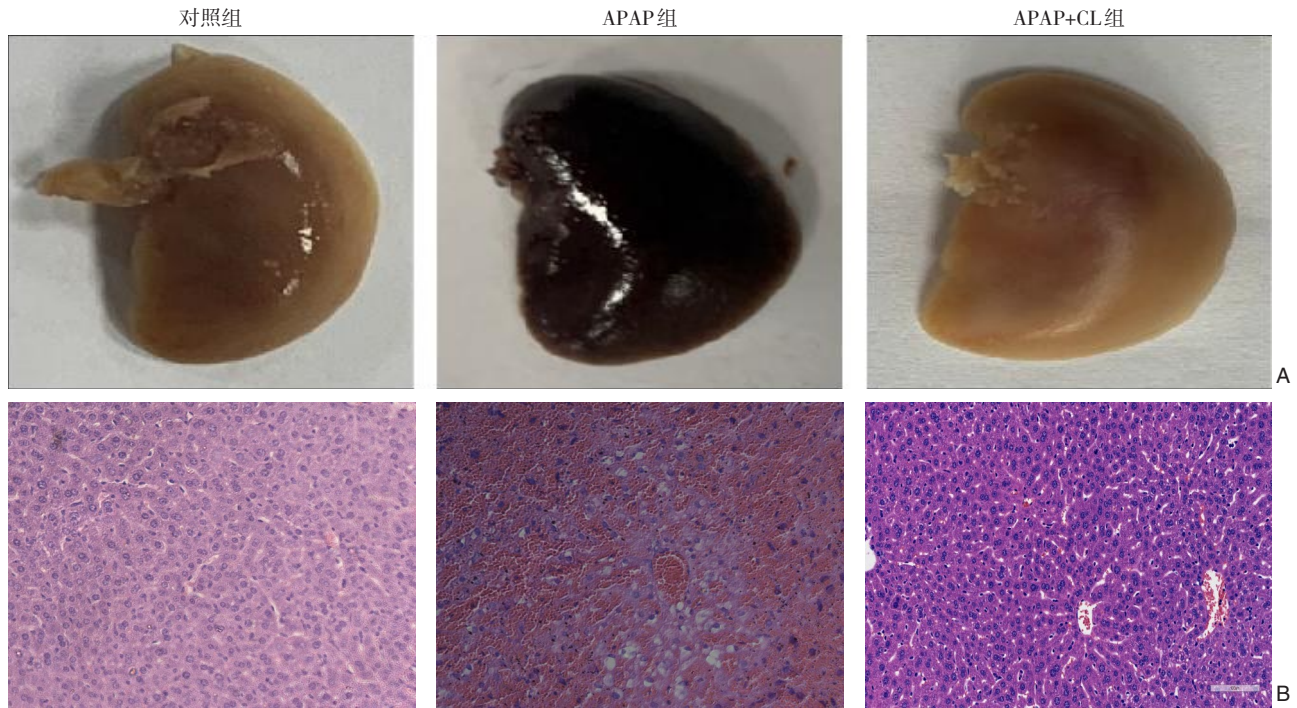


图1 各组小鼠肝脏组织病理学情况 A: 大体标本; B: 组织病理学观察(×200)

Figure 1 Histopathological examination of liver tissues in each group of mice A: Gross specimen; B: Histopathological observation(×200)

2.2 血清学检测结果

血清学检测结果显示，与对照组比较，APAP组血清ALP，ALT和AST均明显升高（均  $P < 0.01$ ），

而APAP+CL组血清ALP、ALT和AST明显降低（均  $P < 0.001$ ）（图2）。

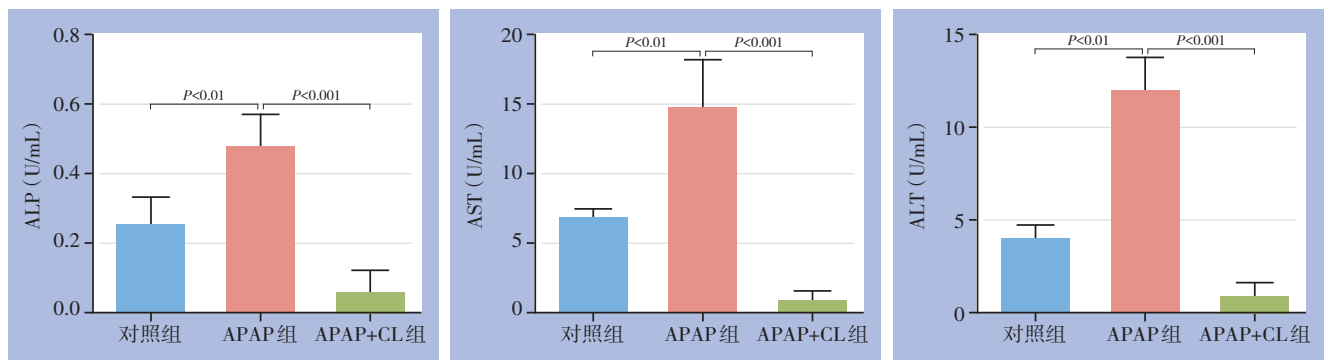


图2 各组小鼠血清ALP、ALT和AST水平

Figure2 Macrophage elimination inhibited high serum level of ALP、ALT and AST induced by APAP

2.3 肝组织ROS生成检测结果

ROS生成的改变在多种疾病中均具有重要的意义。本实验结果显示，给予APAP灌胃3h后明

显增加肝组织中ROS的生成。而给予CL清除巨噬细胞后则明显减轻由APAP所引起的肝组织ROS生成（图3）。

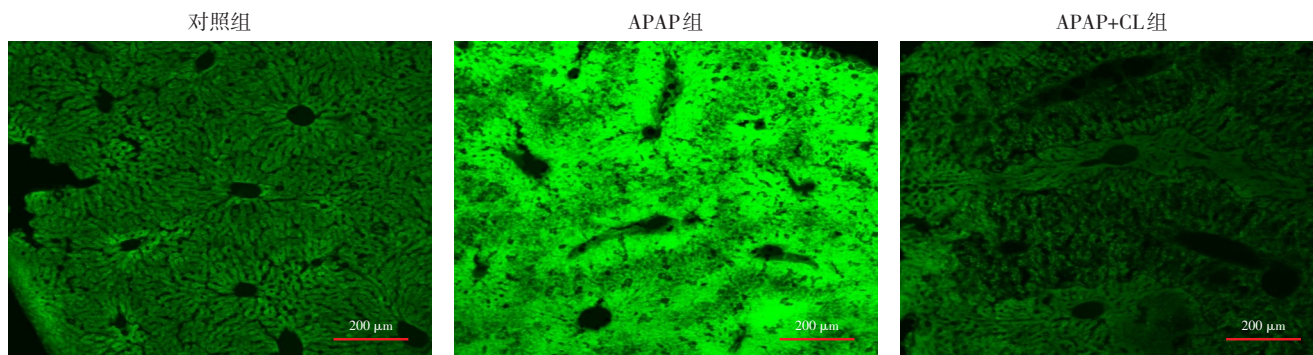


图3 各组小鼠肝组织ROS检测结果

Figure3 ROS detection results in liver tissues of each group of mice

### 2.4 肝组织HO-1表达检测结果

HO-1是血红素分解的限速酶,多种外源性刺激均具有诱导HO-1表达的作用。本实验结果显示,应用APAP处理后,小鼠肝脏组织中HO-1含量明显升高,而清除巨噬细胞后可明显抑制由APAP所引起的HO-1表达升高(均 $P<0.05$ ) (图4)。上述结果提示巨噬细胞HO-1表达异常在由APAP引起的急性肝损伤中具有重要的作用。

### 2.5 细胞实验结果

以上动物实验结果表明:(1)巨噬细胞清除剂抑制由APAP引起的肝组织ROS生成;(2)巨噬细胞清除剂抑制由APAP引起的HO-1表达升高。但是二者之间的关联不清楚。细胞实验结果显示,RAW246.7细胞孵育HO-1抑制剂ZnPPiX后明显拮抗由APAP所引起的细胞内ROS生成( $P<0.001$ ) (图5)。应用APAP处理RAW246.7后,发现HO-1含量明显升高。而给予HO-1抑制剂ZnPPiX后,可明显抑制由APAP所引起的HO-1表达升高( $P<0.001$ ) (图6)。

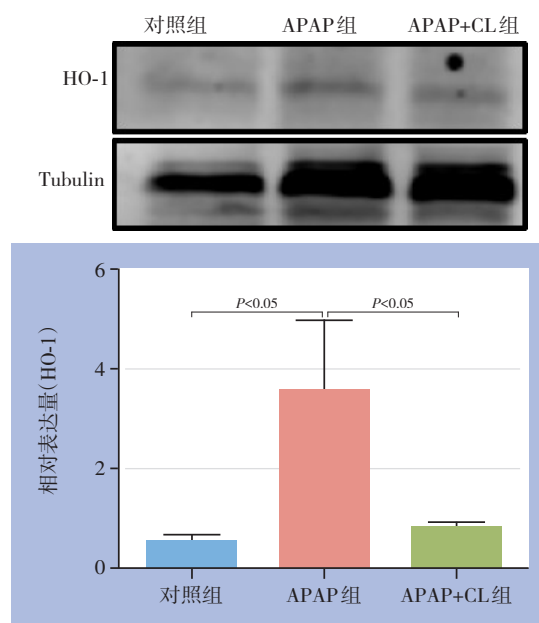


图4 各组小鼠肝组织HO-1表达水平

Figure 4 Expression levels of HO-1 in liver tissues of each group of mice

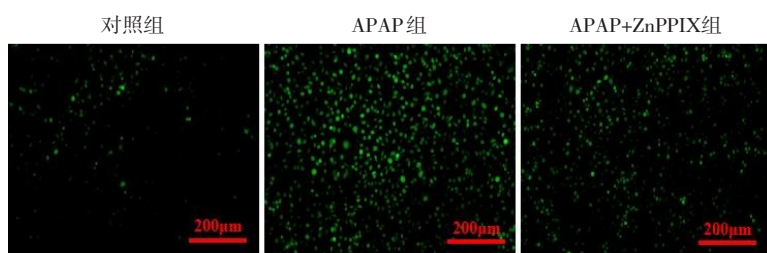
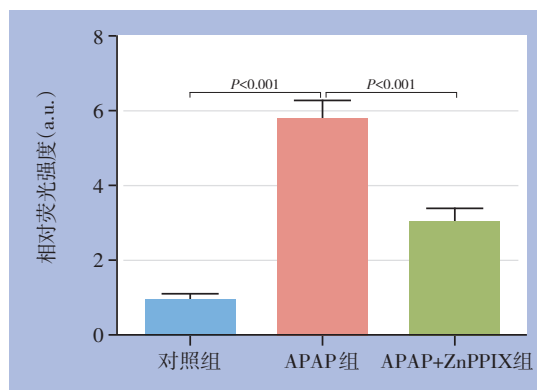


图5 各组RAW246.7细胞ROS生成检测

Figure5 ROS generation detection in each group of RAW246.7 cells



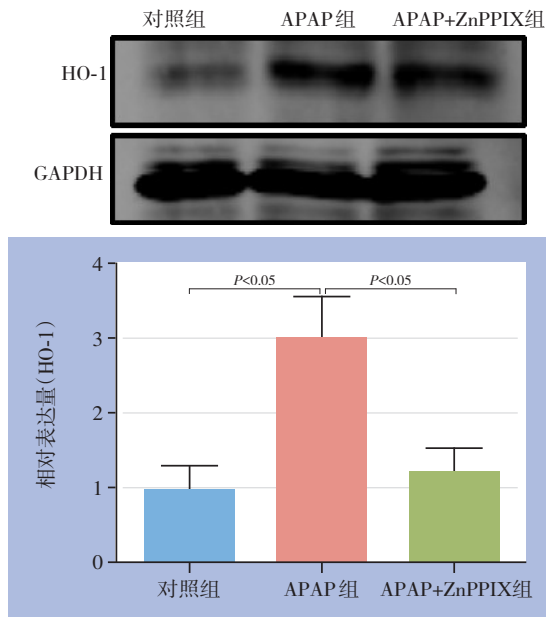


图6 各组RAW246.7细胞HO-1表达检测

Figure 6 HO-1 expression detection in each group of RAW246.7 cells

### 3 讨论

药物性肝损伤是药物自身或者药物代谢物对肝脏造成的损伤，轻度损伤在停药后会慢慢恢复，而重度肝损伤常常会危及生命<sup>[13-14]</sup>。N-乙酰半胱氨酸（NAC）是目前临床治疗由APAP诱发肝毒性的唯一有效药物<sup>[15-16]</sup>。NAC可以通过拮抗APAP代谢产物进而减少其对肝细胞内GSH的消耗，并最终减轻肝损伤。然而NAC在使用的过程中常伴有明显的副作用<sup>[17]</sup>。而且NAC的有效治疗时间为APAP摄入后的8 h之内，随着时间的延长，NAC治疗成功率会逐渐降低<sup>[18-19]</sup>。因此，寻找新的治疗靶点对抗由APAP所引起的急性肝损伤便显得极为重要。

研究<sup>[20]</sup>表明，肝脏固有巨噬细胞清除或功能改变具有调控肝纤维化及抑制胆汁淤积型肝损伤的<sup>[21]</sup>。同时也有研究发现，肝脏巨噬细胞清除可以明显减少肝损伤面积。这也就提示巨噬细胞在维持正常肝脏功能中具有重要的作用<sup>[22]</sup>。本实验发现，应用CL清除巨噬细胞后可以明显抑制由APAP所引起的肝组织淤血及血清转氨酶活性升高，这也提示巨噬细胞在药物诱导的急性肝损伤中具有重要的意义。机体内巨噬细胞存在有两种亚型：M1型（促炎）和M2型（抑炎），这两种不

同亚型的巨噬细胞在机体炎症反应和组织损伤后修复等过程中均具有不同的作用<sup>[23-24]</sup>。结合本研究动物实验结果及考虑到氯磷酸脂质体耗竭巨噬细胞亚型不确定的这一特点，很难推断究竟是哪一种亚型的巨噬细胞在药物诱导的急性肝损伤中具有重要作用。因此，后续研究将通过转基因小鼠进一步研究不同亚型的巨噬细胞在药物诱导的急性肝损伤中的作用。

尽管发现巨噬细胞清除具有抗APAP诱导的肝急性肝损伤的作用，但其具体机制依旧不清楚。目前研究<sup>[25-26]</sup>发现，药物诱导的氧化应激反应在肝损伤中具有重要作用。同时结合本研究动物实验的研究结果，笔者推测由巨噬细胞所介导的氧化应激在APAP介导的急性肝损伤中具有重要作用。通过动物实验，笔者发现APAP具有促肝组织ROS生成的作用，而巨噬细胞清除却可以明显抑制由APAP所引起的ROS生成。本研究在细胞水平同样观察到APAP具有促RAW246.7细胞ROS生成的作用。事实上由巨噬细胞产生并释放的ROS在炎症反应和组织损伤过程中具有重要的意义<sup>[27]</sup>。而且这种由巨噬细胞所产生的ROS还具有破坏细胞膜，进而造成细胞死亡的作用<sup>[28]</sup>。结合本实验所观察到的现象，可以认为抑制巨噬细胞功能在缓解组织损伤或者抑制药物诱导的急性肝损伤中具有重要作用。需要注意的是，虽然巨噬细胞清除可抑制APAP诱导的急性肝损伤，但是本实验给予CL的方式是鼠尾静脉注射而非肝脏靶向性给药，导致不可避免地出现全身性巨噬细胞清除现象。研究<sup>[29]</sup>证实巨噬细胞于多组织脏器中均明显存在，且在维持机体功能中同样具有重要的作用。因此，不排除全身性的巨噬细胞清除会对机体的生理功能及内环境稳定产生影响。但是结合本实验所观察到的结果（一般生理状况），笔者认为这种全身性的巨噬细胞清除对于机体无影响。

HO-1属于诱导型血红素氧合酶，是血红素分解的限速酶。HO-1于正常组织和细胞内均处于低表达状态。但是在外界刺激因素作用下细胞内HO-1表达明显升高。笔者通过研究发现HO-1在APAP诱导的肝损伤中具有重要作用<sup>[30]</sup>，同时结合已有研究<sup>[31-32]</sup>证实HO-1具有促氧化应激反应的作用，由此推测APAP诱导巨噬细胞HO-1表达进而促ROS生成。本研究发现，小鼠给予APAP灌胃及APAP孵育RAW246.7细胞均明显上调HO-1表达，而且拮

抗RAW246.7细胞HO-1表达具有抑制ROS生成的作用。

虽然本实验发现巨噬细胞耗竭具有拮抗由APAP所诱导的急性肝损伤的作用。但是靶向巨噬细胞耗竭、巨噬细胞耗竭亚型难以确定等问题依旧存在,CL是目前应用最为广泛的巨噬细胞耗竭工具<sup>[33]</sup>。尽管具备经济,制备简单等特点,但是其耗竭效率却存在明显差异。CL目前仅作为工具药使用,而且临床也无相关匹配药物。再者,本实验采用的是预先清除巨噬细胞的方式来研究巨噬细胞在药物诱导的急性肝损伤中的作用,给药方式仅适用于基础研究而不适用于临床治疗。尽管本实验存在一些不足之处,但实验结果为防治药物诱导的急性肝损伤提供了新的治疗靶点以及治疗手段。未来的研究重点可着重于探索巨噬细胞耗竭的靶向给药方式设计及确定何种亚型巨噬细胞参与由药物诱导的急性肝损伤。

综上所述,本研究探讨巨噬细胞清除在APAP诱导的急性肝损伤中的作用,发现APAP通过HO-1途径活化促巨噬细胞ROS生成参与急性肝损伤的新机制,揭示了巨噬细胞ROS生成是药物诱导急性肝损伤的关键节点,为探寻肝脏病理功能的研究提供了指导,同时也为临床防治对药物诱导的急性肝损伤防治和治疗提供了新的靶点,为临床药物研发提供新的思路。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:李婧玉负责动物实验和文章撰写;李忠莎、李月负责动物实验;魏思萌负责细胞实验;李琦负责数据分析和文章校阅;陈畅负责实验设计。

## 参考文献

- [1] Yan M, Huo Y, Yin S, et al. Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions[J]. Redox Biol, 2018, 17:274–283. doi: 10.1016/j.redox.2018.04.019.
- [2] Bajaj JS, O'Leary JG, Lai JC, et al. Acute-on-chronic liver failure clinical guidelines[J]. Am J Gastroenterol, 2022, 117(2): 225–252. doi: 10.14309/ajg.0000000000001595.
- [3] Vasques F, Cavazza A, Bernal W. Acute liver failure[J]. Curr Opin Crit Care, 2022, 28(2): 198–207. doi: 10.1097/mcc.0000000000000923.
- [4] Bhushan B, Apte U. Acetaminophen test battery (ATB): a comprehensive method to study acetaminophen-induced acute liver injury[J]. Gene Expr, 2020, 20(2): 125–138. doi: 10.3727/105221620X15901763757677.
- [5] Wen Y, Lambrecht J, Ju C, et al. Hepatic macrophages in liver homeostasis and diseases-diversity, plasticity and therapeutic opportunities[J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(1): 45–56. doi: 10.1038/s41423-020-00558-8.
- [6] Fan J, He M, Wang CJ, et al. Gadolinium chloride inhibits the production of liver interleukin-27 and mitigates liver injury in the CLP mouse model[J]. Mediators Inflamm, 2021, 2021: 2605973. doi: 10.1155/2021/2605973.
- [7] Tacke F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases[J]. J Hepatol, 2017, 66(6):1300–1312. doi: 10.1016/j.jhep.2017.02.026.
- [8] Tasnim F, Huang XZ, Lee CZW, et al. Recent advances in models of immune-mediated drug-induced liver injury[J]. Front Toxicol, 2021, 3:605392. doi: 10.3389/ftox.2021.605392.
- [9] Ben-Moshe S, Veg T, Manco R, et al. The spatiotemporal program of zonal liver regeneration following acute injury[J]. Cell Stem Cell, 2022, 29(6):973–989. doi: 10.1016/j.stem.2022.04.008.
- [10] Weber S, Gerbes AL. Challenges and future of drug-induced liver injury research-laboratory tests[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(11): 6049. doi: 10.3390/ijms23116049.
- [11] Akakpo JY, Ramachandran A, Jaeschke H. Novel strategies for the treatment of acetaminophen hepatotoxicity[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2020, 16(11): 1039–1050. doi: 10.1080/17425255.2020.1817896.
- [12] Tang Z, Ju Y, Dai X, et al. HO-1-mediated ferroptosis as a target for protection against retinal pigment epithelium degeneration[J]. Redox Biol, 2021, 43:101971. doi: 10.1016/j.redox.2021.101971.
- [13] 何燕改,王颖,何悦,等. 416例药物性肝损伤的临床特征及预后分析[J]. 南京医科大学学报:自然科学版, 2022, 42(7):1012–1017. He YG, Wang Y, He Y, et al. Clinical characteristics and prognosis of 416 patients with drug-induced liver injury[J]. Journal of Nanjing Medical University: Natural Sciences, 2022, 42(7): 1012–1017.
- [14] 张笑晨. 药物性肝损伤不同临床分型的特点分析[D]. 长春:吉林大学, 2021. doi:10.27162/d.cnki.gjlin.2021.006510. Zhang XC. Analysis of the characteristics of different clinical types of drug-induced liver injury[D]. Changchun: Jilin University, 2021. doi:10.27162/d.cnki.gjlin.2021.006510.
- [15] Du K, Ramachandran A, Jaeschke H. Oxidative stress during acetaminophen hepatotoxicity: sources, pathophysiological role and therapeutic potential[J]. Redox Biol, 2016, 10: 148–156. doi: 10.1016/j.redox.2016.10.001.
- [16] Devisscher L, van Campenhout S, Lefere S, et al. Metallothioneins alter macrophage phenotype and represent novel therapeutic targets

- for acetaminophen-induced liver injury[J]. *J Leukoc Biol*, 2022, 111(1):123–133. doi: 10.1002/JLB.3A0820–527R.
- [17] Perry HE, Shannon MW. Efficacy of oral versus intravenous N-acetylcysteine in acetaminophen overdose: results of an open-label, clinical trial[J]. *J Pediatr*, 1998, 132(1): 149–152. doi: 10.1016/S0022-3476(98)70501-3.
- [18] Latchoumycandane C, Goh CW, Ong MM, et al. Mitochondrial protection by the JNK inhibitor leflunomide rescues mice from acetaminophen-induced liver injury[J]. *Hepatology*, 2007, 45(2): 412–421. doi: 10.1002/hep.21475.
- [19] Licata A, Minissale MG, Stankevičiūtė S, et al. N-acetylcysteine for preventing acetaminophen-induced liver injury: a comprehensive review[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:828565. doi: 10.3389/fphar.2022.828565.
- [20] Gerlach BD, Ampomah PB, Yurdagül A Jr, et al. Efferocytosis induces macrophage proliferation to help resolve tissue injury[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(12): 2445–2463. doi: 10.1016/j.cmet.2021.10.015.
- [21] Roth K, Strickland J, Copple BL. Regulation of macrophage activation in the liver after acute injury: Role of the fibrinolytic system[J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(16): 1879–1887. doi: 10.3748/wjg.v26.i16.1879.
- [22] Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(5): 1090–1096. doi: 10.1016/j.jhep.2013.12.025.
- [23] Shan Z, Ju C. Hepatic macrophages in liver injury[J]. *Front Immunol*, 2020, 11:322. doi: 10.3389/fimmu.2020.00322.
- [24] Kadamoto S, Izumi K, Mizokami A. Macrophage polarity and disease control[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 23(1): 144. doi: 10.3390/ijms23010144.
- [25] Umeno A, Biju V, Yoshida Y. In vivo ROS production and use of oxidative stress-derived biomarkers to detect the onset of diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and diabetes[J]. *Free Radic Res*, 2017, 51(4): 413–427. doi: 10.1080/10715762.2017.1315114.
- [26] 刘启武, 张自修, 李云涛, 等. 肝损伤的诊断与治疗(附210例报告)[J]. *中国普通外科杂志*, 2001, 10(3):259–261. doi: 10.3969/j.issn.1005–6947.2001.03.021.
- Liu QW, Zhang ZX, Li YT, et al. Diagnosis and treatment of liver trauma (a report of 210 cases) [J]. *China Journal of General Surgery*, 2001, 10(3): 259–261. doi: 10.3969/j.issn.1005–6947.2001.03.021.
- [27] Fang Y, Xing C, Wang X, et al. Activation of the ROS/HO-1/NQO1 signaling pathway contributes to the copper-induced oxidative stress and autophagy in duck renal tubular epithelial cells[J]. *Sci Total Environ*, 2021, 757: 143753. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143753.
- [28] Krenkel O, Tacke F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(5):306–321. doi: 10.1038/nri.2017.11.
- [29] Gentek R, Molawi K, Sieweke MH. Tissue macrophage identity and self-renewal[J]. *Immunol Rev*, 2014, 262(1): 56–73. doi: 10.1111/immr.12224.
- [30] Abdelrahman RS, Abdel-Rahman N. Dimethyl fumarate ameliorates acetaminophen-induced hepatic injury in mice dependent of Nrf-2/HO-1 pathway[J]. *Life Sci*, 2019, 217:251–260. doi: 10.1016/j.lfs.2018.12.013.
- [31] Consoli V, Sorrenti V, Grosso S, et al. Heme oxygenase-1 signaling and redox homeostasis in physiopathological conditions[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(4):589. doi: 10.3390/biom11040589.
- [32] Renji S, Shah N, Madkaikar M. Heme Oxygenase-1 Deficiency[J]. *Indian Pediatr*, 2021, 58(2):196. doi:10.1007/s13312–021–2180-z.
- [33] Feng B, Jiao P, Nie YH, et al. Clodronate liposomes improve metabolic profile and reduce visceral adipose macrophage content in diet-induced obese mice[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9):e24358. doi: 10.1371/journal.pone.0024358.

( 本文编辑 宋涛 )

本文引用格式: 李婧玉, 李忠莎, 李月, 等. 对乙酰氨基酚活化巨噬细胞HO-1/ROS途径诱导急性肝损伤的实验研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2023, 32(7): 1045–1052. doi: 10.7659/j.issn.1005–6947.2023.07.009

Cite this article as: Li JY, Li ZS, Li Y, et al. Acetaminophen-induced acute liver injury through activation of HO-1/ROS pathway in macrophages[J]. *Chin J Gen Surg*, 2023, 32(7): 1045–1052. doi: 10.7659/j.issn.1005–6947.2023.07.009