

促肝细胞生长素对异烟肼和利福平诱导大鼠肝损伤的保护作用

张治国¹, 胡轶娟², 俞保彬¹, 周天琼^{1*}

1. 杭州华津药业股份有限公司, 浙江 杭州 311241

2. 浙江省中医药研究院, 浙江 杭州 310007

摘要: **目的** 研究促肝细胞生长素对异烟肼和利福平诱导大鼠肝损伤的保护作用。**方法** 雄性SD大鼠给予异烟肼50 mg/kg+利福平100 mg/kg, 建立肝损伤模型。促肝细胞生长素组在模型组的基础上给予促肝细胞生长素肠溶胶囊40 mg/kg, 给药3周后, 称体质量, 计算肝系数, 同时比较血清肝功能指标丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素(TBIL)和直接胆红素(DBIL), 肝抗氧化酶系超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、还原型谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)水平, 切片观察肝脏病理变化。**结果** 与模型组相比, 促肝细胞生长素组ALT、AST显著降低($P < 0.05$), ALP、TBIL和DBIL水平也表现出明显的降低趋势; 肝组织SOD、GSH-Px水平显著升高($P < 0.05$), MDA水平显著降低($P < 0.05$), GSH水平有升高趋势。促肝细胞生长素组肝小叶结构清晰, 炎症细胞浸润减少。**结论** 促肝细胞生长素对异烟肼和利福平诱导肝损伤具有保护作用, 其作用机制可能与其肝再生增强因子提高肝组织抗氧化能力、抑制肝组织炎症反应有关。

关键词: 促肝细胞生长素肠溶胶囊; 肝损伤; 异烟肼; 利福平; 肝功能指标; 肝抗氧化酶系

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2020)05-0831-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.05.002

Protective effects of hepatocyte growth-promoting factors on liver injury induced by isoniazid and rifampicin in rats

ZHANG Zhi-guo¹, HU Yi-juan², YU Bao-bin¹, ZHOU Tian-qiong¹

1. Hangzhou Huajin Pharmaceutical Co, Ltd, Hangzhou, 311241, China

2. Zhejiang Traditional Chinese Medicine Academy, Hangzhou, 310007, China

Abstract: Objective To study the protective effects of hepatocyte growth-promoting factors on liver injury induced by isoniazid and rifampicin in rats. **Methods** SD rats were given isoniazid 50 mg/kg + rifampicin 100 mg/kg to establish the model. The hepatocyte growth-promoting factors group was given Hepatocyte Growth-Promoting Factors Enteric-Coated Capsules 40 mg/kg on the basis of the model group. After 3 weeks' intervention, body mass was weighed and liver coefficient was calculated. And the serum liver function indexes ALT, AST, ALP, TBIL, and DBIL, and liver antioxidant enzyme system SOD, GSH-Px, GSH, and MDA were compared, the changes of hepatic pathology was observed by pathological section. **Results** Compared with the model group, ALT and AST in the hepatocyte growth-promoting factors group were significantly decreased ($P < 0.05$), and ALP, TBIL, and DBIL levels also had the trend of decrease. SOD and GSH-Px levels in the hepatocyte growth-promoting factors group were significantly increased ($P < 0.05$), but MDA level was significantly decreased ($P < 0.05$). GSH level had the trend of increase. The structure of hepatic lobules was clear and the infiltration of inflammatory cells was reduced in the hepatocyte growth-promoting factors group. **Conclusion** Hepatocyte growth-promoting factors have the protective effects of liver injury induced by isoniazid and rifampicin in rats, and its mechanism may be related to the enhancement of antioxidant capacity of liver tissue and the inhibition of inflammatory response of liver tissue.

Key words: Hepatocyte Growth-Promoting Factors Enteric-Coated Capsules; liver injury; isoniazid; rifampicin; liver function indexes; liver antioxidant enzyme system

收稿日期: 2020-03-12

基金项目: 浙江省2018年度重点研发计划项目(2018C02051)

作者简介: 张治国, 男, 高级工程师, 博士, 生物制药专业。E-mail: zhangkii@126.com

*通信作者 周天琼, 女, 高级工程师、执业药师, 生物工程专业。E-mail: ztqscd@126.com

异烟肼和利福平是世界卫生组织 (WHO) 推荐的一线抗结核药物, 临床应用广泛, 但二者合用会发生较强的肝毒性, 临床表现为血清转氨酶水平和胆红素升高等肝功能指标异常, 给结核患者的系统治疗和生活质量带来严重的影响。据统计, 异烟肼和利福平引起的肝损伤占各类药物性肝损伤总数的 20%~40%^[1-3], 也是我国急性药物性肝损伤的主要原因之一。

促肝细胞生长素肠溶胶囊是临床常用的肝病治疗药物, 是从乳猪肝提取得到的肝再生增强因子为主要成分的多组分蛋白类药物, 在中重度乙肝治疗、肝功能损伤修复等方面具有优良的临床表现, 但其在结核药引起的药物性肝损伤的临床应用较少。因此, 本文研究了促肝细胞生长素肠溶胶囊对异烟肼和利福平诱导的肝损伤大鼠肝功能指标的影响, 探讨促肝细胞生长素肠溶胶囊肠道给药对结核药肝损伤的预防效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 SPF 级 SD 大鼠, 30 只, 体质量 160~180 g, 动物使用许可证号 SYXK (浙) 2014-0003, 由浙江中医药大学实验动物研究中心提供, 饲养于浙江省中医药研究院动物实验中心, 正式实验前驯养一周。

1.2 药品与试剂

促肝细胞生长素原料药, 产品批号 151203, 多肽含量 486 mg/g, 由杭州华津药业股份有限公司生产。大鼠专用肠溶胶囊, 购自广东强基药业有限公司。灌装成的促肝细胞生长素肠溶胶囊, 每粒胶囊含有促肝细胞生长素 7 mg (以多肽计)。利福平胶囊, 规格 0.15 g/粒, 广东华南药业集团有限公司生产, 产品批号 150601; 异烟肼片, 规格 100 mg/片, 汕头金石制药总厂生产, 产品批号 150302。

丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 试剂盒 (货号 MAK052)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 试剂盒 (货号 MAK055)、碱性磷酸酶试剂盒 (货号 AP0100)、胆红素试剂盒 (货号 MAK126) 均购自合富医疗 (上海) 有限公司; 超氧化物歧化酶 (SOD) 测试盒 (货号 A001-1-2)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 测试盒 (货号 A007-1-1) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 测试盒 (货号 A005-1-2) 均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器

全自动生化分析仪 (奥林巴斯); ELx800 酶标

仪 (Biotek); 岛津 UV-1800 紫外可见分光光度计; TDL-40B 台式低速离心机 (上海安亭科学仪器厂); TS200 微孔板恒温振荡器 (杭州瑞诚仪器有限公司); CHL-4B0210 显微镜 (奥林巴斯); EG11404 蜡块机、Rm2135 切片机、1210 烤片机均由莱卡公司提供。

1.4 动物分组和处理

参照文献报道的方法建立肝损伤大鼠模型^[4-5], 以血清肝功酶学指标 ALT、AST 显著升高且肝小叶结构被破坏作为建模成功的标志。将 30 只雄性 SPF 级 SD 大鼠根据体质量平均分为对照组、模型组、促肝细胞生长素组, 每组 10 只。对照组给予大鼠肠溶胶囊壳 1 粒/d, 同时 ig 生理盐水 2 mL。模型组给予大鼠肠溶胶囊壳 1 粒/d, 同时按异烟肼 50 mg/kg + 利福平 100 mg/kg 的剂量, 每日 ig 给药, 建立肝损伤模型。促肝细胞生长素组按模型组相同的剂量给予异烟肼和利福平, 同时预防性给予促肝细胞生长素肠溶胶囊 40 mg/kg。促肝细胞生长素肠溶胶囊的临床给药剂量为 300~450 mg/d (50 mg/粒, 3 次/d, 2~3 粒/次), 参照黄继汉等^[6]方法, 计算出大鼠的等效剂量为 30.85~46.27 mg/kg。因此, 选择 40 mg/kg 作为给药剂量。给药前, 促肝细胞生长素原料药填充至大鼠专用肠溶胶囊, 每只大鼠 ig 1 粒/d。

实验进行 3 周, 实验期间, 所有动物自由饮水、采食, 饲养环境: 温度 (22±2) °C, 湿度 50%~60%, 光周期: 12 h 白天, 12 h 黑暗。

1.5 促肝细胞生长素对大鼠肝系数的影响

末次给药后, 大鼠禁食 16 h, 称初始体质量, ip 戊巴比妥钠 45 mg/kg 麻醉后处死, 肝门静脉取血, 分离血清 (1 500 r/min、4 °C、10 min); 取肝脏组织称最终体质量, 计算肝系数。

肝系数 = (最终体质量 - 初始体质量) / 体质量

切取少量肝脏组织, 4% 多聚甲醛固定, 剩余组织用冰冷生理盐水漂洗去除血液, 滤纸拭干后, -20 °C 冻存。

1.6 促肝细胞生长素对大鼠肝功能指标的影响

使用全自动生化分析仪测定 ALT、AST、碱性磷酸酶 (ALP)、总胆红素 (TBIL) 和直接胆红素 (DBIL) 等肝功能指标。

1.7 促肝细胞生长素对大鼠肝抗氧化酶系的影响

肝组织加少量液氮速冻、研磨成粉后, 按质量加入 10 倍匀浆液 (pH 7.4, 0.01 mol/L Tris-HCl, 0.01 mol/L 蔗糖, 0.1 mmol/L EDTA·2Na), 冰浴超

声 5 min 后, 离心 (4 000 r/min、4 °C、10 min) 得肝组织提取液。参照试剂盒所述方法测测提取液中 SOD、GSH-Px、GSH 和丙二醛 (MDA) 水平。

1.8 促肝细胞生长素对大鼠肝组织病理的影响

取 4% 多聚甲醛中固定的大鼠肝脏组织, 切成 5 mm×5 mm×5 mm 的立方块, 流水冲洗 30 min, 50%~100% 乙醇梯度脱水, 二甲苯透明、浸蜡包埋。包埋好的蜡块经修切后, 置于切片机上作 5 μm 连续切片。贴于载玻片的切片经二甲苯脱蜡, 酒精梯度 (100%~50%) 及纯水处理后, 执行 HE 染色程序。染色后的切片经酒精脱水和二甲苯透明后, 光学树脂封片, 于光学显微镜下观察肝脏组织病理改变并摄片, 观察倍数为 400 倍。

1.9 统计学分析

所有指标重复测定 3 次, 用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS 19.0 GLM 数据包进行数据统计, 组间数据采用 Duncan 方法进行比较。

2 结果

2.1 促肝细胞生长素对大鼠肝系数的影响

实验期间, 各组动物无死亡。且实验前后各组初始体质量、最终体质量和肝系数比较差异均无统计学意义, 见表 1。

2.2 促肝细胞生长素对大鼠肝功能指标的影响

与对照组比较, 模型组血清 ALT、AST、ALP、TBIL 和 DBIL 显著升高, 两组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明建模成功。与模型组比较, 促肝细胞生长素组 ALT、AST 显著降低, 差异具有

统计学意义 ($P < 0.05$), 血清 ALP、TBIL 和 DBIL 水平也表现出明显的降低趋势, 但与模型组比较差异均无统计学意义, 见表 2。

2.3 促肝细胞生长素对大鼠肝抗氧化酶系的影响

与对照组比较, 模型组肝组织 SOD、GSH-Px 活性和 GSH 水平显著降低 ($P < 0.05$), 而 MDA 水平显著升高 ($P < 0.05$), 表明异烟肼和利福平显著改变了肝脏氧化/抗氧化酶系的平衡, 导致肝组织中过氧化物的积累。与模型组比较, 促肝细胞生长素组肝组织 SOD、GSH-Px 活性水平显著升高 ($P < 0.05$), MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$), 肝组织 GSH 水平呈明显的升高趋势, 但差异无统计学意义。表明促肝细胞生长素改善了异烟肼和利福平引起的肝内氧化应激状况。见表 3。

2.4 促肝细胞生长素对大鼠肝组织病理的影响

实验 3 周后, 对照组肝小叶结构清楚, 细胞大小均匀, 边界清楚, 肝细胞索排列整齐; 模型组肝小叶结构被破坏, 肝细胞边界不清, 肝细胞索排列紊乱, 部分细胞核溶解, 可见炎性细胞浸润。促肝细胞生长素组肝小叶结构基本完整, 细胞索排列整齐, 偶见炎性细胞浸润。见图 1。

3 讨论

研究表明异烟肼和利福平联合用药时, 异烟肼在肝脏内代谢成强肝毒性物质, 直接引起肝细胞凋亡。异烟肼代谢产生大量自由基, 破坏肝细胞内氧化还原平衡, 使肝细胞脂肪变性和谷胱甘肽耗竭, 损伤肝细胞线粒体的功能, 引起肝细胞功能障碍乃

表 1 促肝细胞生长素对大鼠肝系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of hepatocyte growth-promoting factors on hepatic index in rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	剂量/(g·kg ⁻¹)	初始体质量/g	最终体质量/g	肝系数/%
对照	10	—	207.83±4.88	271.44±6.36	3.41±0.35
模型	10	—	205.42±5.32	267.42±7.35	3.51±0.21
促肝细胞生长素	10	40	203.68±3.19	261.25±5.69	3.36±0.18

表 2 促肝细胞生长素对大鼠肝功能指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of hepatocyte growth-promoting factors on liver function indexes in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	ALT/(IU·L ⁻¹)	AST/(IU·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	TBIL/(μmol·L ⁻¹)	DBIL/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	32.23±6.58	77.30±7.30	0.78±0.19	1.23±0.35	0.56±0.14
模型	—	43.13±6.81 [#]	114.33±19.87 [#]	0.99±0.18 [#]	3.08±0.83 [#]	2.63±0.45 [#]
促肝细胞生长素	40	34.82±5.95 [*]	88.48±5.44 [*]	0.92±0.18	2.67±0.67	1.27±0.33

与对照组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

表3 促肝细胞生长素对大鼠肝抗氧化酶系的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3 Effects of hepatocyte growth-promoting factors on liver antioxidant enzyme system in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·L ⁻¹ ·mg ⁻¹ Prot ⁻¹)	GSH/(mg·mg ⁻¹ Prot ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹ Prot ⁻¹)	GSH-Px/(U·mg ⁻¹ Prot ⁻¹)
对照	—	0.62 ± 0.07	4.83 ± 0.36	104.52 ± 21.65	34.81 ± 8.03
模型	—	0.94 ± 0.14 [#]	2.66 ± 0.22 [#]	86.61 ± 15.09 [#]	25.47 ± 3.77 [#]
促肝细胞生长素	40	0.63 ± 0.08 [*]	3.81 ± 0.32	112.08 ± 20.18 [*]	33.10 ± 6.47 [*]

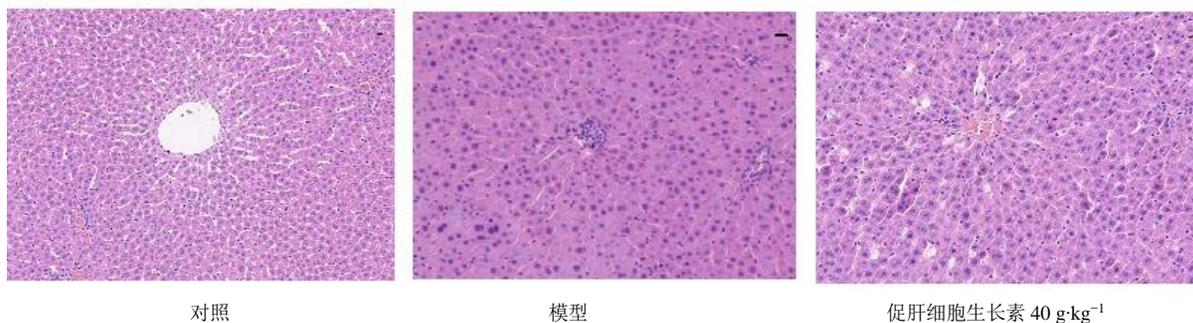
与对照组比较: [#]*P* < 0.05; 与模型组比较: ^{*}*P* < 0.05[#]*P* < 0.05 vs control group; ^{*}*P* < 0.05 vs model group

图1 促肝细胞生长素对大鼠肝组织病理的影响 (HE × 400)

Fig. 1 Effects of hepatocyte growth-promoting factors on hepatic pathology (HE × 400)

至肝细胞凋亡^[7-9]。细胞色素 P450 酶参与催化异烟肼在肝内的代谢过程, 利福平增强了 P450 酶的活性, 为异烟肼的代谢提供了乙酰基, 增强了异烟肼的毒性, 还可干扰胆红素的代谢及排泄, 导致血中非结合型和结合型胆红素含量增加, 引起胆汁淤积型损害^[10-11]。

肝再生增强因子是一种在新生动物肝组织中大量表达的、富含亮氨酸的酸性核蛋白。它能促进肝实质细胞 DNA 合成和细胞分裂, 促进肝再生^[12-13], 减轻肝移植时的急性排异反应^[14], 对伴刀豆蛋白 A、四氯化碳、乙醇、anti-Apo、转化生长因子 β 和放线菌素 D 等诱导的急性肝细胞凋亡具有显著的抑制作用^[15-17]。肝再生增强因子具有改善线粒体功能、抗炎和增强细胞抗氧化能力等多种活性。它对胆管阻塞模型大鼠肝线粒体的 DNA 合成、线粒体呼吸控制率、氧化磷酸化比率具有显著的促进作用, 保护了肝细胞线粒体功能的完整性^[18], 对健康大鼠线粒体基因编码的蛋白表达也具有促进作用^[19]。肝再生增强因子可显著升高急性肝损伤小鼠肝细胞中调节性 T 细胞的量, 降低炎症因子白介素-6 和肿瘤坏死因子-α 的表达水平^[20], 减少了肝缺血模型大鼠 CD4⁺ T 细胞的募集^[21], 抑制炎症的发展进程。肝再生增强因子还与细胞的抗氧化能力有关, 在人胶质瘤细胞和肾近曲小管细胞的体外实验中, 其表达

水平与细胞的抗自由基损伤能力成正相关^[22-23]; 在长期酒精性肝损伤实验中, 肝再生增强因子蛋白缺陷型小鼠的肝氧化应激程度和肝脂质过氧化物水平显著高于野生型小鼠^[24]。此外, 肝再生增强因子对人肝细胞的细胞色素 P450 酶具有显著的抑制活性^[25]。

本试验使用的促肝细胞生长素原料药提取自乳猪肝脏。体外检测证明该原料药中存在对人及鼠肝再生增强因子抗体敏感的肽类化合物。此外, 本实验数据证明促肝细胞生长素组的血清 ALT 和 AST 水平显著降低, 肝组织炎症细胞减少、肝组织抗氧化酶活性显著升高、脂质过氧化水平显著降低, 推测促肝细胞生长素肠溶胶囊对异烟肼和利福平引起的药物性肝损伤具有修复作用, 可能与该药物中肝再生增强因子蛋白的抗炎、体内抗氧化等活性有关。

促肝细胞生长素肠溶胶囊对异烟肼和利福平诱导肝损伤具有保护作用, 其作用机制可能与其中的肝再生增强因子提高肝组织抗氧化能力, 抑制肝组织炎症反应有关。

参考文献

- [1] 江学富, 汪凯, 汪朝辉, 等. 198 例药物性肝损伤临床分析 [J]. 安徽医药, 2014, 18(8): 1553-1556.
- [2] 吴晓宁, 尤红, 贾继东. 2003—2007 年国内药物性肝损伤临床特点文献综合分析 [J]. 肝脏, 2008, 13(6): 463-466.

- [3] 梁雁, 刘晓, 张海燕, 等. 325例药物性肝损伤分析[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(12): 1144-1148.
- [4] 钱妍, 魏来, 赵春景. 番茄红素对异烟肼和利福平致大鼠肝损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(9): 1246-1249.
- [5] 杨慧媛, 宋育林, 许建明, 等. 异烟肼利福平合用致大鼠肝损伤的实验模型[J]. 安徽医科大学学报, 2008, 43(2): 185-189.
- [6] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [7] Yew W W, Leung C C. Antituberculosis drugs and hepatotoxicity [J]. *Respirology*, 2006, 11(6): 699-707.
- [8] 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.
- [9] Metushi I G, Nakagawa T, Uetrecht J. Direct oxidation and covalent binding of isoniazid to rodent liver and human hepatic microsomes: Humans are more like mice than rats [J]. *Chem Res Toxicol*, 2012, 25(11): 2567-2576.
- [10] 陈熙. 利福平引起的肝内胆胆汁淤积及其分子机理[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2009.
- [11] 蔡轶, 任晓非, 王巍, 等. 利福平致大鼠胆汁淤积性肝损伤适应性现象的研究[J]. 胃肠病学, 2013, 18(3): 134-138.
- [12] Yang K, Du C Y, Cheng Y, et al. Augmenter of liver regeneration promotes hepatic regeneration depending on the integrity of Kupffer cell in rat small-for-size liver transplantation [J]. *J Surg Res*, 2013, 183(2): 922-928.
- [13] Wang C P, Zhou L, Su S H, et al. Augmenter of liver regeneration promotes hepatocyte proliferation induced by Kupffer cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(30): 4859-4865.
- [14] Chen Y, Liang S Y, Long F W, et al. Augmenter of liver regeneration attenuates acute rejection after rat liver transplantation [J]. *Am J Surg*, 2016, 212(1): 128-137.
- [15] Mu M, Zhang Z W, Cheng Y, et al. Augmenter of liver regeneration (ALR) restrains concanavalin A-induced hepatitis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 35: 280-286.
- [16] Yang X, Wang A, Zhou P, et al. Protective effect of recombinant human augmenter of liver regeneration on CCl4-induced hepatitis in mice [J]. *Chin Med J*, 1998, 111(7): 625-629.
- [17] Ilowski M, Kleespies A, de Toni E N, et al. Augmenter of liver regeneration (ALR) protects human hepatocytes against apoptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404(1): 148-152.
- [18] Tang C, Lin H, Wu Q, et al. Recombinant human augmenter of liver regeneration protects hepatocyte mitochondrial DNA in rats with obstructive jaundice [J]. *J Surg Res*, 2015, 196(1): 90-101.
- [19] Polimeno L, Capuano F, Marangi L C, et al. The augmenter of liver regeneration induces mitochondrial gene expression in rat liver and enhances oxidative phosphorylation capacity of liver mitochondria [J]. *Dig Liver Dis*, 2000, 32(6): 510-517.
- [20] 孙海青, 娄金丽, 刘新, 等. 肝再生增强因子通过增加调节T细胞数量保护小鼠急性肝损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(1): 1-5.
- [21] Khandoga A, Mende K, Iskandarov E, et al. Augmenter of liver regeneration attenuates inflammatory response in the postischemic mouse liver *in vivo* [J]. *J Surg Res*, 2014, 192(1): 187-194.
- [22] Polimeno L, Pesetti B, De Santis F, et al. Decreased expression of the augmenter of liver regeneration results in increased apoptosis and oxidative damage in human-derived glioma cells [J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3: e289.
- [23] Xia N, Yan R Y, Liu Q, et al. Augmenter of liver regeneration plays a protective role against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in renal proximal tubule cells [J]. *Apoptosis*, 2015, 20(4): 423-432.
- [24] Kumar S, Wang J, Rani R, et al. Hepatic deficiency of augmenter of liver regeneration exacerbates alcohol-induced liver injury and promotes fibrosis in mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0147864.
- [25] Thasler W E, Dayoub R, Mühlbauer M, et al. Repression of cytochrome P450 activity in human hepatocytes *in vitro* by a novel hepatotrophic factor, augmenter of liver regeneration [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316(2): 822-829.