基于 Nrf2/Keap1 信号通路探讨金盏银盘水提液对四氯化碳诱导急性肝损伤小鼠抗氧化应激作用

张帆，王琪文，戴卫波，曾聪彦，吴洪欣，董更婷*
广州中医药大学附属中山中医院 中山市中医院 药学部，广东 中山 528400

摘　要：目的　探究金盏银盘 Bidens biternata（Lour.）Merr.&Sherff.水提液对四氯化碳诱导的急性肝损伤改善作用及其机制。**方法**　将 60 只雄性昆明小鼠随机分为对照组、模型组、水飞蓟素（0.15 g/kg）组和金盏银盘低、高剂量（3.9、7.8 g/kg）组，每组 12 只。各组小鼠连续 ig 给予相应药物 7 d，末次给药后除对照组外均 ip 0.4%四氯化碳构建急性肝损伤小鼠模型。24 h 后收集小鼠血清及肝脏组织。用生化试剂盒检测血清中天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、超氧化物歧化酶（SOD）活性及丙二醛（MDA）含量，并取肝组织匀浆检测谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性。采用苏木精－伊红染色（HE）切片观察小鼠肝脏病理变化。Western blotting 测定肝组织中核因子 E_2 相关因子 2（Nrf2）、抗体 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1（Keap1）、血红素氧合酶 1（HO-1）蛋白的表达情况。**结果**　与模型组比较，金盏银盘水提液组小鼠组织病理学观察发现肝脏炎症细胞浸润明显减少，血清 AST、ALT、MDA 水平降低，血清 SOD 和肝组织 GSH-Px 活性升高（$P<0.05$、0.01）；金盏银盘水提液组可以增加小鼠肝脏 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达，抑制 Keap1 蛋白表达。**结论**　金盏银盘能够有效改善四氯化碳诱导的急性肝损伤，作用机制与激活 Nrf2/Keap1 信号通路抑制氧化应激损伤有关。

关键词：金盏银盘；急性肝损伤；核因子 E_2 相关因子 2；抗体 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1；超氧化物歧化酶；丙二醛
中图分类号：R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674 - 5515(2023)04 - 0755 - 06
DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.04.002

Anti-oxidative effect of *Bidens biternata* water extract on CCl_4 induced acute liver injury in mice via Nrf2/Keap1 pathway

ZHANG Fan, WANG Qi-wen, DAI Wei-bo, ZENG Cong-yan, WU Hong-xin, DONG Geng-ting
Department of Pharmacy, Zhongshan Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Zhongshan 528400, China

Abstract: Objective　To explore the protective effect and mechanism of *Bidens biternata* water extract on the acute liver injury in mice induced by CCl_4. **Methods**　60 Male Kunming mice were randomly divided into control group, model group, silymarin (0.15 g/kg), low and high-dose (3.9 and 7.8 g/kg) of *B. biternata* water extract, each group had 12 mice. Mice in each group were given the corresponding drug intragastrically for 7 days. After the last administration, all mice except the control group were given 0.4% CCl_4 to establish the model of acute liver injury. The serum and liver tissues of mice were collected 24 h later. The activities of AST, ALT, SOD, and MDA in serum were detected by biochemical kit, and GSH-Px activity was detected by liver homogenate. The pathological changes of liver were observed by hematoxylin - eosin staining (HE) sections. The expressions of Nrf2, Keap1, and HO-1 protein in liver were determined by Western blotting. **Results**　Compared with model group, histopathological observation in *B. biternata* water extract group showed that liver inflammatory cell infiltration was significantly decreased, serum AST, ALT, and MDA levels were decreased, but SOD and liver GSH-Px activities were increased ($P < 0.05$, 0.01). The expression of Nrf2 and HO-1 protein was increased, and Keap1 protein was inhibited in the *B. biternata* water extract group. **Conclusion**　*B. biternata* can effectively improve acute liver injury induced by CCl_4, and its mechanism is related to the activation of Nrf2/Keap1 signaling pathway to inhibit oxidative stress injury.

Key words: *Bidens biternata*; acute liver injury; Nrf2; Keap1; SOD; MDA

收稿日期：2023-01-10
基金项目：中山市医学科研项目（2021A020743）
作者简介：张帆，男，主管药师，主要从事药效物质基础相关研究。E-mail: zhangfan-1220@163.com
***通信作者：**董更婷，女，中药学博士，助理研究员，主要从事中药药理学研究。E-mail: donggengting@163.com

肝脏是人体最大的消化器官，对能量代谢、清除毒素起到不可替代的作用，并且因结构独特同样发挥着重要的免疫作用[1]。近年来，全球肝脏疾病的患病率和死亡率逐年提升，在全球肝病患者中中国所占比例约为 20%。在众多诱发因素中化学性肝损伤，特别是急性肝损伤对人类健康威胁最大，有研究表明氧化应激是引发肝细胞凋亡的重要原因之一，会诱发一系列更为严重的肝脏功能损伤[2-6]。临床常用甘草酸二铵、熊去氧胆酸和水飞蓟素等药物进行针对性治疗，但常伴有胃肠反应和分泌功能失调等不良反应，因此急需探究更为安全有效的抑制肝损伤药物。中药应用历史悠久，因疗效好，不良反应少被中国患者广泛接受[3]，因此本实验从传统中药着手寻找有效抑制急性肝损伤药物。

金盏银盘 *Bidens biternata*（Lour.）Merr.&Sherff. 为菊科鬼针草属，始载于唐朝时期《本草拾遗》，味苦、平，无毒，现代研究发现其含有黄酮、氨基酸以及酚酸类等成分，药理学研究发现同属药物鬼针草具有保肝、护心、抗衰老等功效，其作用机制与抗炎、抗氧化密切相关，但金盏银盘的研究有限。《本草纲目拾遗》中记载金盏银盘可用来治疗黄疸等疾病[7-11]，但能否改善急性肝损伤有待研究。故本研究应用经典的四氯化碳诱导小鼠急性肝损伤模型探究金盏银盘对肝脏保护作用及相关机制，以期为临床治疗急性肝损伤应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级昆明雄性小鼠购自珠海百试通生物科技有限公司，许可证号 SCXL（粤）2020-0051，动物质量合格证号 44822700007283，体质量（20±2）g。实验期间动物饲养于中山市中医院屏障级动物实验室，使用许可证号 SYXK（粤）2020-0109，环境温度维持在 20～24 ℃，相对湿度保持在 50%～70%，昼夜交替 12 h，使用灭菌洁净水和 SPF 级实验动物饲料进行饲养，让小鼠自由摄食、饮水。本研究相关动物操作均获得中山市中医院伦理委员会批准，批准号 AEWC-2022059。

1.1.2 药物与试剂 金盏银盘（批号 210401）购自广州至信药业有限公司，经中山市中医院曾聪彦主任中药师鉴定为金盏银盘的干燥全草；水飞蓟素（批号 C13425764）及四氯化碳（批号 C11588428）购自上海麦克林生化科技股份有限公司。丙氨酸氨基转移酶（ALT，批号 C009-2-1）、天冬氨酸氨基转移酶（AST，C010-2-1）、超氧化物歧化酶（SOD，批号 S0103）试剂盒均购自南京建成生物工程研究所；谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）试剂盒（批号 S0057S）、丙二醛（MDA）试剂盒（批号 S0131S）、RIPA 裂解液（批号 P0013B）、蛋白酶磷酸酶抑制剂通用（批号 P1046）、一抗稀释液（批号 P0256-500 mL）均购自碧云天生物技术公司；BCA 蛋白定量试剂盒（批号#23225）购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司；抗体血红素氧合酶 1（HO-1，批号 AF5393）、核因子 E_2 相关因子 2（Nrf2，批号 AF0639）、β-肌动蛋白（β-actin，批号 AF7018）均购自江苏亲科生物研究中心有限公司；抗体 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1（Keap1，批号 D199574）购自生工生物工程（上海）股份有限公司；Anti-rabbit IgG（批号 7074P2）购自 Cell Signaling Technology 公司。

1.1.3 仪器 样品冷冻研磨仪（广州露卡测序仪器有限公司）；化学发光成像系统[伯乐生命医学产品（上海）有限公司]；医用离心机（湖南恒诺仪器设备有限公司）；多功能酶标仪（珀金埃尔默仪器有限公司）；金属加热仪（武汉赛维尔生物科技有限公司）；电子天平[岛津企业管理（中国）有限公司]；双独立高电流电泳电源（广州道一科学技术有限公司）；倒置荧光显微镜（ECLIPSE）；0.45 nm PVDF 膜（密理博中国有限公司）。

1.2 方法

1.2.1 金盏银盘水提液的制备 将 1 kg 金盏银盘药材加水浸泡 1 h，装纱袋，加 10 L（10 倍量）水煎煮 2 h，分离药液与药渣，药渣加 8 L（8 倍量）水煎煮 1 h，合并 2 次药液，浓缩到 1 280 mL。1 mL 金盏银盘水提液相当于生药量为 0.78 g。

1.2.2 动物分组给药及建模 将 60 只小鼠随机分为对照组、模型组、水飞蓟素 0.15 g/kg 组和金盏银盘水提液低、高剂量（3.9、7.8 g/kg，以生药计）组，每组 12 只，给药剂量根据换算公式[W×临床每天用药剂量/人体质量（W=9.1，金盏银盘临床剂量 60 g/d，人体质量按照 70 kg 计算）]换算得来。对照组与模型组小鼠 ig 生理盐水；其余均按体质量（10 mL/kg）ig 相应药物，连续给药 7 d，末次给药后除对照组外其余小鼠均 ip 玉米油稀释的 0.4%四氯化碳建立肝损伤模型，给药剂量为 0.2 mL/10 g。24 h 后麻醉取血，4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min 取上清于−20 ℃冰箱保存，取出肝脏拍照，一部分用于组织固定，一部分放于−80 ℃冰箱保存。

1.2.3　肝脏组织学分析　观察肝脏的外观形态并称其湿质量，计算肝脏指数。切除部分肝脏右叶置于 10%的甲醛溶液固定 24 h 后，分别用 70%乙醇、80%乙醇、90%乙醇、95%乙醇Ⅰ、95%乙醇Ⅱ、无水乙醇Ⅰ、无水乙醇Ⅱ、无水乙醇Ⅲ梯度脱水，再分别用二甲苯－酒精（1∶1），二甲苯Ⅰ、二甲苯Ⅱ、二甲苯Ⅲ各透明 30 min，石蜡包埋切片，苏木精－伊红（HE）染色后，光学显微镜（200 倍）观察肝组织切片病理学变化。

肝指数＝肝质量/小鼠体质量

1.2.4　血清 AST、ALT 测定　将血样静置 2 h 后离心取上清，按试剂盒说明书检测 AST、ALT 水平。

1.2.5　氧化应激相关指标含量测定　取肝组织按 1∶10 加入组织匀浆液，4 ℃匀浆 1 min 后置于冰上裂解 30 min，4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min 取上清，应用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白含量后，按说明书步骤检测 GSH-Px 活性。取血清，按试剂盒说明书检测 MDA 水平以及 SOD 活性。

1.2.6　蛋白印迹法检测 Nrf2/Keap1 信号通路相关蛋白表达水平　称取 20 mg 小鼠肝脏组织，按 1∶10 比例加入 RIPA 裂解液（含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂），4 ℃匀浆 1 min，冰上裂解 30 min 后离心（4 ℃、14 000 r/min）提取上清。使用 BCA 试剂盒对蛋白定量，97 ℃金属浴使蛋白变性。用 10% SDS-PAGE 进行电泳分离（恒压 70 V 电泳 30 min 转为 120 V 电泳 1 h）；将分离的蛋白转至 PVDF 膜，设置恒流 0.3 A，转膜 90 min。转膜后使用 5%脱脂奶粉（PBST 配制）封闭 2 h。PBST 洗膜 3 次，每次 5 min。加入使用一抗稀释液按 1∶1 000 比例稀释的抗体 Keap1、HO-1、Nrf2、β-actin，4 ℃孵育过夜。次日 PBST 洗膜 3 次，使用一抗稀释液按 1∶10 000 稀释的二抗摇床上室温敷 2 h。洗膜后加入显影液并应用化学发光成像系统成像。

1.3　数据统计分析

使用 SPSS 24.0 软件对数据进行单因素方差分析，分析结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，并使用 GraphPad Prism 7.00 绘图。

2　结果

2.1　金盏银盘水提液对急性肝损伤小鼠肝脏指数的影响

与对照组比较，模型组小鼠肝指数均明显升高（$P<0.05$）；与模型组比较，金盏银盘水提液组小鼠肝指数均降低，且金盏银盘水提液 7.8 g/kg 组更显著（$P<0.01$），见表 1。

表 1　金盏银盘水提液对急性肝损伤小鼠肝指数的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 12$）

Table 1　Effects of *Bidens biternata* water extract on liver index in mice with acute liver injury ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/(g·kg^{-1})	肝指数/%
对照	—	4.59±0.33
模型	—	5.37±0.47*
水飞蓟素	0.15	4.75±0.18
金盏银盘水提液	3.90	4.82±0.27
	7.80	4.40±0.55$^{\#\#}$

与对照组比较：$^{*}P<0.05$；与模型组比较：$^{\#\#}P<0.01$

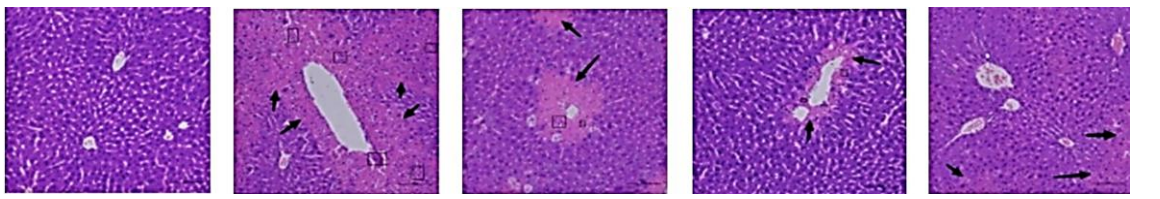
$^{*}P < 0.05$ *vs* control group; $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* model group

2.2　金盏银盘水提液对肝脏形态及病理学改善

由图 1 可见，对照组小鼠肝脏表面光滑富光泽，颜色呈暗红色，质地柔软；模型组小鼠肝脏表面粗糙，颜色暗淡无光泽，质地较硬；与模型组小鼠相比较，金盏银盘水提液组小鼠肝脏表面颜色转红，质地变软并且变的光滑，对肝损伤小鼠肝脏病理状态显著改善，且呈剂量相关性。由图 2 可见，对照组小鼠肝细胞有序的排列，围绕中央静脉规则并且紧密的向四周排列，肝索之间可见正常肝血窦，分界清晰可见，细胞核圆润无凋亡固缩现象；模型组小鼠肝细胞出现大量炎症细胞浸润，中央静脉周围大量肝细胞受损及核固缩，肝索破裂，肝血窦间有淋巴细胞聚集；与模型组小鼠相比较，金盏银盘水提液组肝细胞发生了显著改善，炎症细胞浸润明显减少，金盏银盘水提液 7.8 g/kg 组效果最好。

图 1　金盏银盘水提液对肝脏组织外观形态影响

Fig. 1　Influence of *Bidens biternata* water extract on appearance and morphology of liver tissue



箭头表示炎症细胞浸润，圈出区域为核固缩

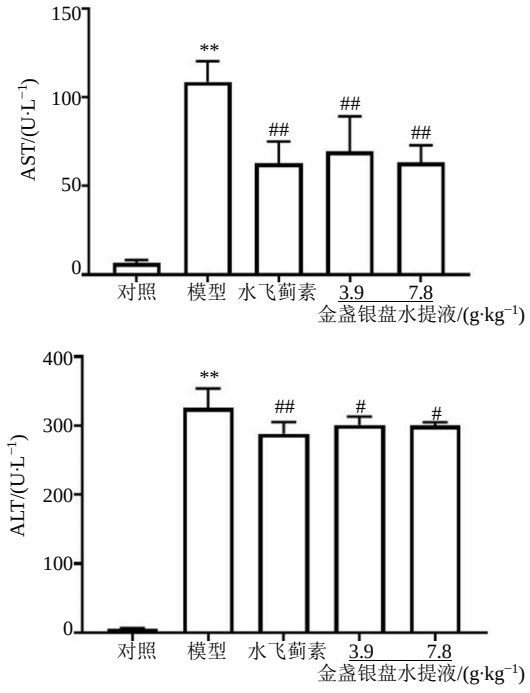
The arrows indicate infiltration of inflammatory cells, and the area circled is nucleolysis

图 2 金盏银盘水提液对急性肝损伤小鼠肝组织病理形态的影响（×200）

Fig. 2 Effect of *Bidens biternata* water extract on pathological morphology of liver tissue in mice with acute liver injury (×200)

2.3 金盏银盘水提液对肝损伤小鼠 AST、ALT 水平的影响

与对照组比较，模型组小鼠 AST 和 ALT 水平均显著升高（$P<0.01$）；与模型组小鼠比较，金盏银盘水提液 3.9、7.8 g/kg 组小鼠 AST 和 ALT 水平均显著降低（$P<0.05$、0.01），见图 3。



与对照组比较：$^{**}P<0.01$；与模型组比较：$^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$

$^{*}P < 0.05$ *vs* control group; $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* model group

图 3 金盏银盘水提液对血清中 AST、ALT 水平的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 12$）

Fig. 3 Effect of *Bidens biternata* water extract on serum AST and ALT levels ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

2.4 金盏银盘水提液对氧化应激相关指标的影响

与对照组相比，模型组小鼠血清中 MDA 水平显著增加，血清 SOD 和肝脏 GSH-Px 活性显著降低（$P<0.05$、0.01）；与模型组相比，金盏银盘水提液组血清中 MDA 水平显著降低，血清 SOD 和肝脏 GSH-Px 活性显著增强（$P<0.01$），且金盏银盘水提液 7.8 g/kg 组作用效果更好，见图 4。

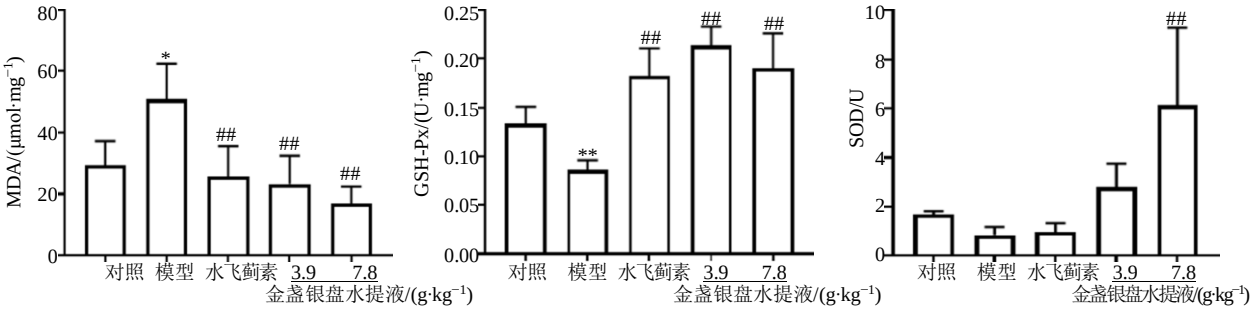
2.5 金盏银盘对 Nrf2/Keap1 通路的影响

与对照组小鼠比较，模型组小鼠 Keap1 蛋白表达上调，Nrf2 和 HO-1 蛋白表达下调。与模型组比较，金盏银盘水提液组 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达上调，Keap1 蛋白表达下调，且表现出一定的剂量相关性，见图 5。

3 讨论

肝脏对人体代谢排毒发挥着重要的作用，但近年来发现有各种各样的原因导致肝损伤，特别是酒精性肝损伤和药物性肝损伤等化学性肝损伤频发，如果没有得当的治疗，极有可能会演变为急性肝衰竭，严重威胁人类生命健康[12-13]。当体内能量失衡、出现炎症等状况时，会引起活性氧（ROS）与抗氧因子失衡，发生氧化应激，造成脂质过氧化产生过多 MDA 和 Ca^{2+}流失等影响，导致急性肝损伤。四氯化碳诱导的急性肝损伤模型，产生的氧化应激反应能够有效呈现临床病理状态[14-17]。

ALT 与 AST 主要分布于心肌与肝脏中，正常情况下血清水平微乎其微。当机体抗氧化系统与氧化系统失调时，机体发生氧化应激，导致肝细胞膜受损通透性增加，血清中 AST 和 ALT 指标会发生明显的上升[12]。本研究发现，模型组小鼠血清 AST 和 ALT 水平都明显提高，而给予金盏银盘水提液治疗后，小鼠血清中 AST 和 ALT 都低于模型组。MDA 水平可作为判断机体氧化水平的重要指标，当氧自由基积聚过多致使肝脏受损时，MDA 水平会明显增加，说明受损越严重[18-19]。本研究中发现模型组小鼠血清 MDA 水平明显高于对照组小鼠，给予金盏银盘水提液的小鼠 MDA 水平低于模型组。机体抗氧化系统中的一些酶，如 SOD 与 GSH-Px 等会因



与对照组比较：$^{*}P<0.05$　$^{**}P<0.01$；与模型组比较：$^{\#\#}P<0.01$

$^{*}P < 0.05$　$^{**}P < 0.01$ *vs* control group; $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* model group

图 4　金盏银盘水提液对血清中 MDA、GSH-Px、SOD 的活性影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 12$）

Fig. 4　Influence of *Bidens biternata* water extract on activities of MDA, GSH-Px and SOD in serum ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

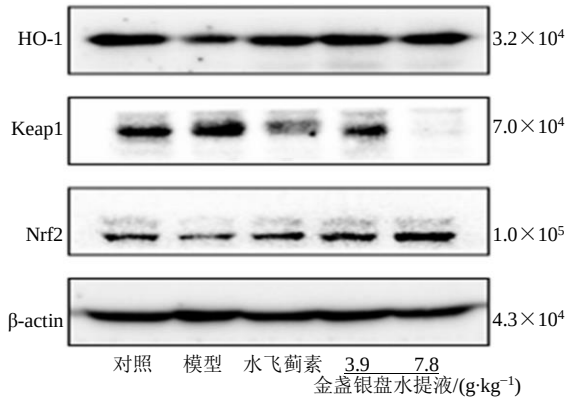


图 5　金盏银盘水提液对急性肝损小鼠 Nrf2/Keap1 信号通路的影响

Fig. 5　Effect of *Bidens biternata* water extract on Nrf2/Keap1 signaling pathway in mice with acute liver injury

抵御氧化应激反应而被消耗水平下降，与 GSH-Px 有关的谷胱甘肽（GSH）能与 ROS 直接反应，有利于肝损伤的修复[5]。本研究发现模型组小鼠 SOD 和 GSH-Px 都明显降低，给予金盏银盘水提物治疗后，SOD 和 GSH-Px 较模型组相比较均明显升高。

为进一步了解金盏银盘抗氧化作用机制，本研究还检测了金盏银盘对 Nrf2/Keap1 信号通路的影响。Nrf2-Keap1 信号通路在抵御氧化应激反应方面起着关键作用。机体正常条件下，Nrf2 与 Keap1 相互抑制，当机体发生氧化应激时，Nrf2 与 Keap1 发生解联，Nrf2 入核与抗氧化反应元件作用，激活下游相关抗氧化因子 HO-1，同时能够促进 SOD、GSH-Px 的抗氧化作用，使其上调[20-22]。如本研究结果所示，四氯化碳诱导小鼠肝脏 Nrf2 与 HO-1 蛋白抵御氧化应激被消耗因而表达下调，Keap1 蛋白缺少 Nrf2 的限制而表达上调。给予金盏银盘治疗后，Nrf2 和 HO-1 蛋白表达上调，Keap1 表达下调。

本研究发现金盏银盘能够显著改善四氯化碳诱导急性肝损伤小鼠的肝脏病理状态及细胞受损，降低 AST 与 ALT 的水平，减少血清 MDA 水平，并且显著增强抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 活力。进一步研究发现金盏银盘可上调肝损伤小鼠肝脏 Nrf2 和 HO-1 的蛋白表达，下调蛋白 Keap1 的表达。因此断金盏银盘对四氯化碳诱导的急性肝损伤小鼠具有保护作用，其作用机制与激活 Nrf2-Keap1 信号通路抵御氧化应激有关。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Racanelli V, Rehermann B. The liver as an immunological organ [J]. *Hepatology*, 2006, 43(2 Suppl 1): S54-S62.

[2] Xiao J, Wang F, Wong N K, *et al*. Global liver disease burdens and research trends: Analysis from a Chinese perspective [J]. *J Hepatol*, 2019, 71(1): 212-221.

[3] Wang F S, Fan J G, Zhang Z, *et al*. The global burden of liver disease: The major impact of China [J]. *Hepatology*, 2014, 60(6): 2099-2108.

[4] 吴凤兰, 廖南盛, 卫家润, 等. 壮药治疗肝病的机制研究进展 [J]. 广西医学, 2022, 44(13): 1535-1537.

[5] 廖月, 何毅怀, 罗亚文. 氧化应激在急性肝损伤中的作用 [J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(10): 2402-2407.

[6] Ramos-Tovar E, Muriel P. Free radicals, antioxidants, nuclear factor-E2-related factor-2 and liver damage [J]. *J Appl Toxicol*, 2020, 40(1): 151-168.

[7] 顾海珠, 宋金斌, 朱育凤. 鬼针草的现代研究 [J]. 时珍国药研究, 1998(2): 88-90.

[8] 胡红刚, 李忠贵, 钟小群. 鬼针草属植物基源考证及开发前景分析 [J]. 江西中医药大学学报, 2021, 33(5): 1-8.

[9] 林慧, 梅全喜. 金盏银盘的本草考证 [J]. 中国药房, 2014, 25(47): 4504-4505.

[10] 朱卫星, 成聪聪, 甘国兴, 等. 基于网络药理学的金盏银盘作用机制研究 [J]. 中国野生植物资源, 2019, 38(5): 48-54.

[11] 沈艺玮, 林丽清, 林新华, 等. 鬼针草的化学成分及药理活性研究进展 [J]. 福建医科大学学报, 2015, 49(1): 58-61.

[12] 方春秋, 张文军, 张景洲, 等. 常见肝损伤动物模型构建和应用的研究状况 [J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(3): 276-280.

[13] García-Cortés M, Ortega-Alonso A, Andrade R J, *et al*. Safety of treating acute liver injury and failure [J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2022, 21(2): 191-203.

[14] 张雨欣, 周小杰, 于浩然, 等. 内质网应激与氧化应激 [J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(10): 2009-2024.

[15] Lee Y S, Cho I J, Kim J W, *et al*. Hepatoprotective effects of blue honeysuckle on CCl_4-induced acute liver damaged mice [J]. *Food Sci Nutr*, 2018, 7(1): 322-338.

[16] 瞿文生, 尹继业, 高月求, 等. 天然多糖对化学性肝损伤的干预和治疗效果评价研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2018, 45(12): 885-898.

[17] 王雨欣, 王倩, 田颖. 不同化学物质建立肝损伤动物模型的作用机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(10): 109-114.

[18] 樊丽琳, 陈东风. 肝脏线粒体呼吸功能损伤在大鼠非酒精性脂肪性肝病中的作用 [J]. 重庆医学, 2007(15): 1503-1505.

[19] 俞小飞. 自身抗体及 AST/ALT 比值测定在病毒性肝病中的临床应用 [J]. 中外医疗, 2017, 36(32): 32-33.

[20] Yi G , Din J U , Zhao F, *et al*. Effect of soybean peptides against hydrogen peroxide induced oxidative stress in HepG2 cells via Nrf2 signaling [J]. *Food Funct*, 2020, 11(3): 2725-2737.

[21] Shin S M, Yang J H, Ki S H. Role of the Nrf2-ARE pathway in liver diseases [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013: 763257.

[22] Tang W, Jiang Y F, Ponnusamy M, *et al*. Role of Nrf2 in chronic liver disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(36): 13079-13087.

[责任编辑 高源]