基于 16S rDNA 测序技术分析对乙酰氨基酚致肝损伤小鼠肠道菌群变化特征

彭小园[1]，李 野[1]，封海涛[2]，易东阳[1]，曾保富[3]，杨 策[1]，李 宁[1]，王文祥[1*]

1. 重庆三峡医药高等专科学校，重庆 404120
2. 重庆大学附属三峡医院，重庆 404031
3. 重庆市万州区第一人民医院，重庆 404130

摘 要：目的 采用 16S rDNA 测序技术分析对乙酰氨基酚（APAP）所致药物性肝损伤（DILI）小鼠肠道菌群的变化，并探讨小鼠 DILI 的可能机制。**方法** 20 只雄性 C57BL/6N 小鼠随机分为对照组和 APAP 组，APAP 组 ig APAP（600 mg·kg^{-1}）复制 DILI 小鼠模型，对照组 ig 0.5% 羧甲基纤维素钠（CMC-Na）溶液。连续 14 d 后，试剂盒法检测血清中丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）、脂多糖（LPS）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、白细胞介素-6（IL-6）的含量或活性；HE 染色法观察肝脏和肠道病理变化；16S rDNA 测序法分析粪便肠道菌群组成结构。**结果** 与对照组相比，APAP 组小鼠血清中 ALT、AST、LPS、TNF-α、IL-6 的含量或活性显著升高（P＜0.01），肝细胞内可见大量的嗜酸性变和明显的炎性细胞浸润，回肠和结肠黏膜层腺体皱缩。肠道菌群结构紊乱，变形菌门（Proteobacteria）、放线菌门（Actinobacteria）、不动杆菌属（*Acinetobacter*）相对丰度显著升高（P＜0.01），疣微菌门（Verrucomicrobia）、艾克曼菌属（*Akkermansia*）相对丰度、Shannon 指数显著下降（P＜0.05）。**结论** APAP 致小鼠 DILI 时肠道菌群的结构和组成均发生变化，APAP 可能通过破坏肠道微生物稳态和肠道屏障，增加肠道通透性致内毒素外漏，加重 DILI 的程度。

关键词：药物性肝损伤；对乙酰氨基酚；肠道菌群；高通量测序；16S rDNA

中图分类号：R965 **文献标志码：**A **文章编号：**1674-6376（2024）01-0096-07

DOI：10.7501/j.issn.1674-6376.2024.01.011

Analysis of gut microbiota changes in APAP induced liver injury in mice based on 16S rDNA sequencing technology

PENG Xiaoyuan[1], LI Ye[1], FENG Haitao[3], YI Dongyang[1], ZENG Baofu[2], YANG Ce[1], LI Ning[1], WANG Wenxiang[1]

1. Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China
2. Chongqing University Three Gorges Hospital, Chongqing 404031, China
3. The First People's Hospital of Wanzhou District, Chongqing 404130, China

Abstract: Objective To analyze the changes of gut microbiota during drug-induced liver injury (DILI) in mice induced by acetaminophen (APAP) using 16S rDNA sequencing technology, and to explore the possible mechanism of DILI in mice. **Method** 20 male C57BL/6N mice were randomly divided into control group and APAP group. The APAP group was ig with APAP (600 mg·kg^{-1}) to bulid the DILI mouse model, while the control group was ig with an equal amount of 0.5% carboxymethyl cellulose sodium (CMC-Na) solution. After 14 consecutive days, the contents or activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lipopolysaccharide (LPS), tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6) in serum were determined under anesthesia. HE staining to observe the pathological changes of the liver and intestines. 16S rDNA sequencing to analyze the composition and structure of fecal gut microbiota. **Results** Compared with the control group, the contents or activities of ALT, AST, LPS, TNF-α and IL-6 in serum of APAP group were significantly increased (P < 0.01), a large number of eosinophilic

收稿日期：2023-08-22

基金项目：重庆市教委科学技术研究项目（KJZD-K202202701）；重庆三峡医药高等专科学校苗圃项目（XJ2022002505）

第一作者：彭小园，男，助教，硕士研究生，研究方向为中药质量标准及作用机制研究。E-mail：814600846@qq.com

***通信作者：**王文祥，男，讲师，博士研究生，研究方向为中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail：wangwenxiang@cqtgmc.edu.cn

changes and obvious inflammatory infiltration cell were observed in liver cells. Glands in the ileum and colon mucosa were shrunk. The structure of intestinal microbiota was disordered, the relative abundance of Proteobacteria, Actinobacteria, and *Acinetobacter* were significantly increased ($P < 0.01$), the relative abundance of Verrucomicrobia, *Akkermansia* and Shannon index were decreased significantly ($P < 0.01$, 0.05). **Conclusion** The structure and composition of intestinal microbiota in mice with DILI induced by APAP have undergone changes. APAP may increase intestinal permeability and lead to endotoxin leakage by disrupting intestinal microbiota homeostasis and intestinal barrier, exacerbating DILI.

Key words: drug-induced liver injury; acetaminophen; gut microbiota; high-throughput sequencing; 16S rDNA

对乙酰氨基酚（APAP）为临床上常用的解热镇痛药，常规治疗剂量疗效显著，一旦过量服用后会产生严重的肝毒性，造成急性肝损伤，甚至进一步发展为急性肝衰竭[1]。据报道，APAP致药物性肝损伤（DILI）率逐年上升，已成为西方国家引发急性肝衰竭的最主要因素[2]。

肠道菌群是人体肠道内正常微生物的总称，主要以细菌为主，具有免疫调节、能量代谢、抗病毒、抗衰老等作用，被称为人体内的“隐形器官”[3]。随着对“肠-肝轴”的深入研究，肠道菌群与DILI的关系已成为热点[4-5]。肠道菌群紊乱会影响肝病，在正常免疫反应时，少量细菌及其代谢产物会被肝脏库普弗细胞清除，但当肠道菌群失调或门静脉高压破坏肠黏膜功能时，进入肝脏的内毒素和细菌增多，激活库普弗细胞和肝细胞，释放炎症因子，对肝脏及肠黏膜功能造成进一步损伤[1]。目前，已有研究证实，肠道菌群与对APAP、他克林、异烟肼、利福平等药物所致肝损伤存在联系[6-9]，然而肠道微生态与APAP肝损伤的相关性研究仍处于初级阶段。本研究ig APAP建立DILI小鼠模型，检测血清生化指标，观察肝和肠的病理形态学改变及肠道菌群的变化情况，探讨APAP对肠道菌群的影响，揭示肠道菌群在DILI中的作用，为DILI的机制研究和临床预防提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级雄性C57BL/6N小鼠20只，体质量18～22 g，由北京维通利华实验动物技术有限公司提供（合格证号No.110011200110848785），实验动物生产许可证号SCXK（京）2021-0011，小鼠饲养于重庆三峡医药高等专科学校实验动物中心，自由进食水，恒湿温，12 h交替照明。实验经重庆三峡医药高等专科学校生物医学伦理委员会批准，编号SYYZ-A-2212-0005。

1.2 实验药物

对乙酰氨基酚片（石药集团欧意药业有限公司，规格：每片0.5 g，批号016171002），实验时将其充分研磨，加入0.5%羧甲基纤维素钠（CMC-Na），用蒸馏水溶解配制成所需浓度的混悬液。

1.3 实验试剂

天冬氨酸氨基转移酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）试剂盒（批号分别为201201、201001），深圳市库贝尔生物科技股份有限公司提供；肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素-6（IL-6）试剂盒（批号分别为SXM063、SXM032），上海森雄科技事业有限公司提供；细菌内毒素脂多糖（LPS）试剂盒（批号ECK-0882），安度斯生物有限公司提供。

1.4 实验仪器

iChem-300型自动生化仪（深圳市库贝尔生物科技有限公司）；HT150R型高速台式冷冻离心机（湖南湘仪实验室仪器开发有限公司）；BX43F型显微镜[奥林巴斯（中国）有限公司]；RM2016型切片机（上海徕卡仪器有限公司）。

2 方法

2.1 动物分组

将20只小鼠适应性喂养1周，随机分为对照组和APAP（600 mg·kg^{-1}，剂量参考文献报道[10]及预试验设置）组，每组10只，ig给药，对照组ig等量CMC-Na溶液，连续ig 2周。

2.2 标本采集

实验结束后，摘眼球取血，3 500 r·mL^{-1}离心15 min，收集冷贮待测血清指标；颈椎脱臼处死小鼠，开腹剖取肝脏、回肠和结肠组织，4%多聚甲醛固定，用于观察病理形态学变化；同时取小鼠新鲜粪便，−80 ℃保存。

2.3 血清指标检测

自动生化仪检测小鼠血清中AST、ALT、TNF-α和IL-6的活性或含量，终点显色法检测血清中LPS含量。

2.4 HE染色法

取出固定的肝、肠组织，脱水、包埋、切片、染色，观察结果。

2.5 16S rDNA测序

使用随机数字表法每组选取4只小鼠的粪便标

本送至上海派森诺生物科技有限公司进行16S rDNA测序，分析粪便肠道菌群组成结构。

2.6 统计学分析

采用SPSS 22.0软件对实验数据进行统计分析，并以$\bar{x}\pm s$表示，组间差异用两样本独立t检验。

3 结果

3.1 血清中ALT、AST活性和TNF-α、IL-6、LPS含量

与对照组相比，APAP组小鼠血清中ALT、AST活性和TNF-α、IL-6、LPS含量均显著升高（$P<0.01$），见表1。

表1 小鼠血清ALT、AST活性和TNF-α、IL-6、LPS含量变化（$\bar{x}\pm s$，n=10）

Table 1 Changes of ALT, AST activity, and TNF-α, IL-6 and LPS content in mice（$\bar{x}\pm s$，n=10）

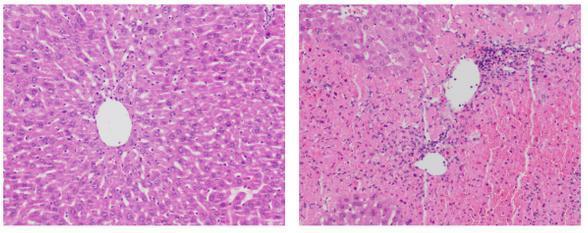
组别	剂量/（mg·kg^{-1}）	AST/（U·L^{-1}）	ALT/（U·L^{-1}）	TNF-α/（pg·mL^{-1}）	IL-6/（pg·mL^{-1}）	LPS/（EU·mL^{-1}）
对照	—	71.50±7.10	26.70±3.59	15.58±1.02	26.09±1.49	0.061±0.007
APAP	600	289.10±27.06**	248.30±24.30**	29.65±2.09**	39.44±2.41**	0.106±0.014**

与对照组比较：$^{**}P<0.01$。

$^{**}P<0.01$ *vs* control group.

3.2 肝、肠病理形态变化

肝脏HE染色结果显示，对照组小鼠肝小叶结构完整，肝细胞索排列整齐呈放射状，肝细胞核圆而清晰，无明显病变；APAP组小鼠肝小叶结构破坏，肝细胞索排列紊乱，肝细胞内嗜酸性变和炎性细胞浸润明显，偶见点状坏死。回肠HE染色结果显示，对照组小鼠回肠黏膜层结构完整清晰，绒毛分布排列均匀、整齐，无明显病变；APAP组小鼠回肠黏膜层结构破坏，绒毛脱落、断裂，隐窝结构被破坏，腺体皱缩，严重炎性浸润明显。结肠HE染色结果显示，对照组小鼠结肠黏膜层结构完整，固有层腺体排列整齐，黏膜下层未见明显病变；APAP组小鼠结肠黏膜上皮轻微水肿，固有层腺体皱缩、扭曲，间隙增宽，局部炎性细胞浸润。结果见图1～3。



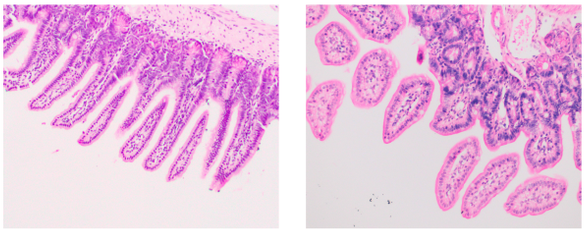
对照 APAP 600 mg·kg^{-1}

图1 肝组织病理变化（HE，×200）

Fig. 1 Morphological change of liver tissue (HE, ×200)

3.3 APAP对小鼠肠道菌群的影响

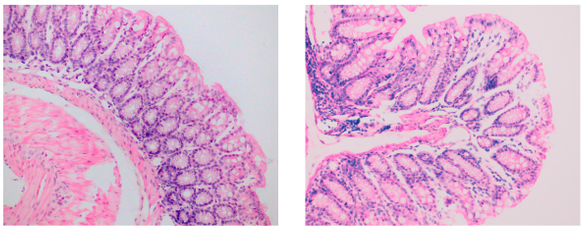
3.3.1 α多样性分析 α多样性能反映物种丰度和多样性。测序样本的微生物群落Chao1指数和Shannon指数稀释曲线趋向平坦，说明本实验的测序深度已基本覆盖到样品中所有的物种，见图4。Chao1数值越大，说明物种越丰富；Shannon指数越大，说明物种多样性越高。结果显示，对照组和APAP组物种丰度无显著差异，而物种多样性有显著差异（$P<0.05$），见图5。



对照 APAP 600 mg·kg^{-1}

图2 回肠组织病理变化（HE，×200）

Fig. 2 Morphological change of ileum tissue (HE, ×200)



对照 APAP 600 mg·kg^{-1}

图3 结肠组织病理变化（HE，×200）

Fig. 3 Morphological change of colon tissue (HE, ×200)

3.3.2 β多样性分析 β多样性能衡量群落间的差别，PCoA图中样本的距离可反映样本组成和丰度的相似度，距离越近代表样本组成和丰度越接近。PCoA1为第1主坐标，对肠道菌群的代表性为38.4%、PCoA2为第2主坐标，代表性为18.7%。PCoA1轴上可见对照组和APAP组距离相差较大，表明两组小鼠肠道菌群结构组成和多样性存在差异，见图6。

3.3.3 肠道菌群物种组成分析 门水平上，选取丰

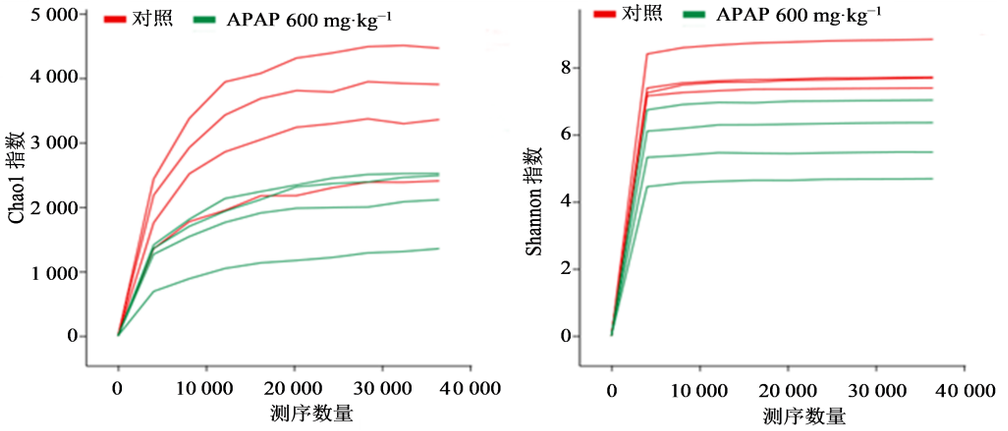
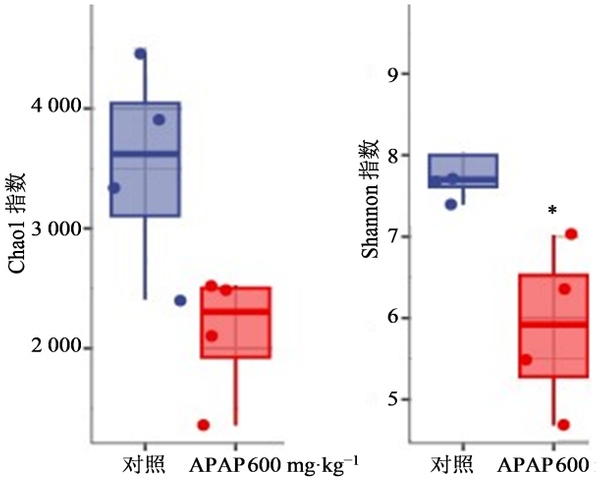


图4 肠道菌群稀释曲线

Fig. 4 Dilutioncurve of intestinal flora sequencing



与对照组比较：*P<0.05。

*P < 0.05 *vs* control group.

图5 肠道菌群α多样性

Fig. 5 Alpha diversity of intestinal flora

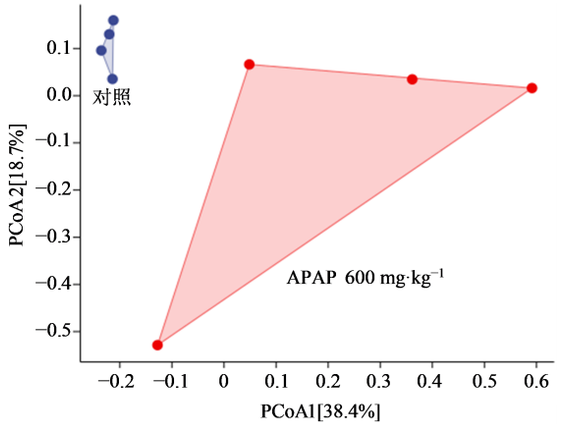


图6 肠道菌群PCoA图

Fig. 6 PCoA of intestinal flora

度含量前10的肠道菌群物种，首先，2组小鼠粪便菌群厚壁菌门（Firmicutes）和拟杆菌门（Bacteroidetes）丰度最高，为绝对优势菌门，占比均在84%以上，其次为变形菌门（Proteobacteria）、疣微菌门（Verrucomicrobia）及放线菌门（Actinobacteria）。与对照组相比，APAP组的Bacteroidetes和Firmicutes无显著差异，Verrucomicrobia的丰度显著降低（P<0.05），Proteobacteria和Actinobacteria显著升高（P<0.05），见图7。

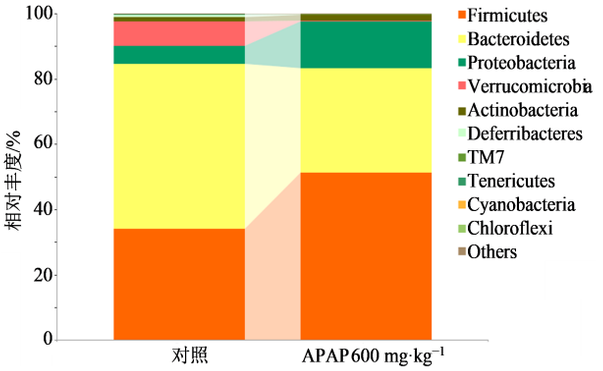


图7 肠道菌群在门水平的分布

Fig. 7 Distribution of intestinal microflora on phylum level

属水平上，选取丰度含量前10的肠道菌群物种，2组小鼠粪便菌群乳杆菌属（*Lactobacillus*）丰度最高，其次为不动杆菌属（*Acinetobacter*）、艾克曼菌属（*Akkermansia*）。与对照组相比，APAP组的*Acinetobacter*显著升高（P<0.05），*Akkermansia*显著降低（P<0.05），见图8。

3.3.4 LEf Se差异分析 LEf Se分析对照组和APAP组之间的物种差异，柱状图线性判别分析（LDA）得分大于2，表明该物种是2组之间肠道菌群差异性标志物种，长度越长表明该物种的差异越显著。LEf Se分析结果显示，2组小鼠的特异菌群为艾普西隆变形杆菌纲（Epsilonproteobacteria）、弯曲杆菌目（Campylobacterales）、韦荣氏球菌科（Veillonellaceae）、Helicobacteraceae、月形单胞菌

属（*Selenomonas*）、螺旋杆菌科属（*Helicobacter*）、*Mogibacteriaceae*、狄氏副拟杆菌属（*Parabacteroides*）等差异显著（$P<0.05$），见图 9。

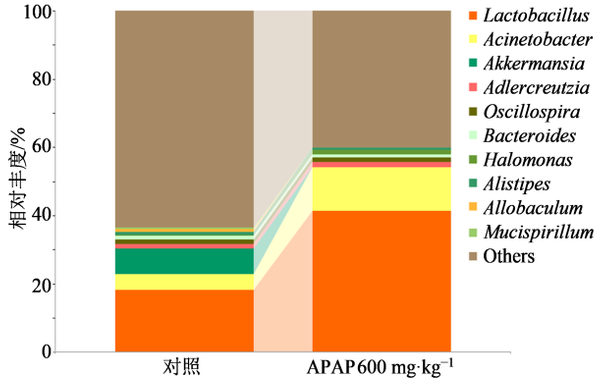


图 8 肠道菌群在属水平的分布

Fig. 8 Distribution of intestinal microflora at genus

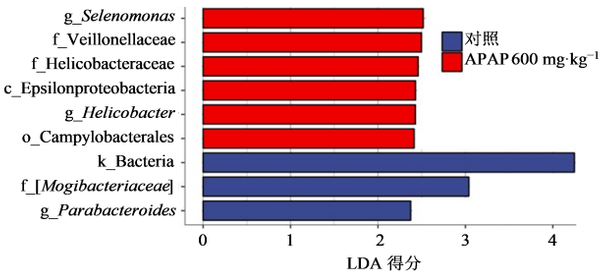


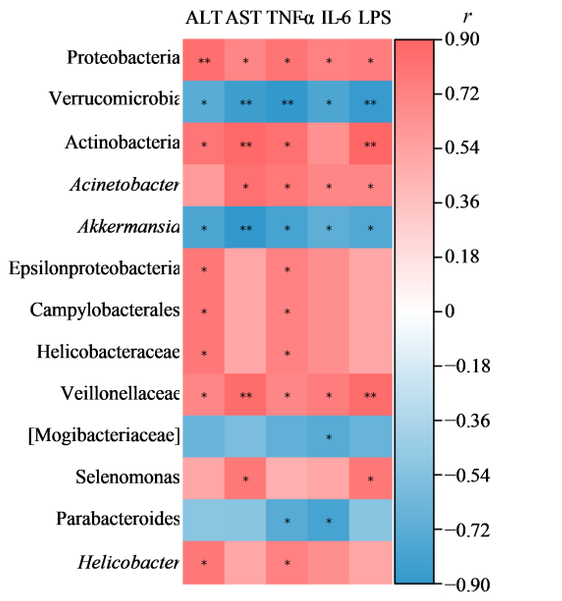
图 9 LEf Se 差异分析

Fig. 9 LEfSe analysis of intestinal microflora

3.3.5 相关性分析 将门、属水平上有显著差异菌群及 LEf Se 分析获得的 8 个生物标志物与血清肝功能、炎症、内毒素等指标进行 Spearman 相关性分析，Verrucomicrobia、*Akkermansia* 与血清中 AST、ALT、TNF-α、IL-6、LPS 呈负相关（$P<0.05$、0.01）；Proteobacteria、Actinobacteria、*Acinetobacter*、Epsilonproteobacteria、Campylobacterales、Veillonellaceae、Helicobacteraceae、*Helicobacter* 与血清中 AST、ALT、TNF-α、IL-6 呈正相关（$P<0.05$、0.01）；*Mogibacteriaceae*、*Parabacteroides* 与血清中 TNF-α、IL-6 呈负相关（$P<0.05$）。Proteobacteria、Actinobacteria、Acinetobacter、Veillonellaceae、*Selenomonas* 和血清中 LPS 呈正相关（$P<0.05$、0.01），见图 10。

4 讨论

APAP 是 DILI 的常用造模药物，正常用法用量下，APAP 进入机体后会在肝脏中代谢，在代谢酶的作用下产生毒性产物 *N*-乙酰对苯醌亚胺（NAPQI），随后与谷胱甘肽（GSH）结合，一旦 APAP 过量，



$r<0$ 为负相关，$r>0$ 为正相关；$^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$。

$r<0$ is negative correlation, $r>0$ is positive correlation; $^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.01$.

图 10 Spearman's 相关性分析热图

Fig. 10 spearmanr correlation analysis heat map

NAPQI 增加，GSH 耗尽，短时间内会发生氧化应激和大量肝细胞坏死[11]。文献检索发现，小鼠 APAP 致肝损伤模型剂量在 200～600 mg·kg^{-1}，剂量越高肝损伤程度越严重[10]。研究证实，小鼠和人类的 APAP 毒性机制相同，当 APAP 用量超过 150 mg·kg^{-1} 时均会出现肝损伤，被认为是最理想的模拟人类 DILI 的动物模型[12-13]。课题组通过体征、肝功能、肝组织病理的变化对小鼠品种、给药剂量进行了筛选，发现 C57BL/6N 小鼠对 APAP 更敏感，且在给药 600 mg·kg^{-1} 血清肝功能水平和肝细胞受损明显。AST、ALT 是衡量肝脏损伤程度的“金指标”，在 DILI 的过程中，肝细胞死亡并释放相关内容物导致血清中的 ALT、AST 活性升高[14-15]。本研究结果显示，与对照组相比，APAP 组小鼠血清中 AST、ALT 显著升高，肝病理切片也出现不同程度的坏死、炎性细胞浸润，这些表征说明 DILI 模型制备成功。

“肠-肝轴”理论指出，肝肠两个器官共同起源于胚胎前肠，生长成熟后与门静脉和胆道相通，门静脉是 70% 肝脏血供的源泉[16]。肠黏膜机械屏障是肠黏膜屏障的重要组成成分，是人体与外源性微生物的第一道防线，防止细菌内毒素等有害物质进入肝脏；肝脏是机体发挥免疫功能的重要器官，提供第二道防线；肝、肠两个器官在结构上和功能上相辅相成，又具有相同的胚胎起源，构建起机体与外界的“肠-肝”防御系统。肠道内大量的细菌与内毒

素被肠黏膜屏障隔离，当肠道屏障功能受损时，肠黏膜通透性增加致使细菌移位以及LPS增多，LPS由门静脉系统进入肝脏，被肝脏中Toll受体4（TLR4）识别，TLR4可以启动髓样分化因子（MyD88）依赖性通路，激活NF-κB，释放TNF-α、IL-6，引起肝脏炎症损伤[17]。研究发现，四氯化碳致DILI大鼠的回肠结构被破坏，黏膜水肿明显，炎症细胞浸润增加[18]。Gong等[19]发现，抗结核药物诱发的DILI小鼠会破坏肠道屏障，导致结肠上皮脱落，隐窝深度缩短，出现大量炎性浸润。本研究结果显示，APAP致DILI小鼠回肠和结肠结构被破坏，腺体皱缩，炎性细胞浸润；APAP组小鼠血清中TNF-α、IL-6、LPS显著升高，说明APAP致小鼠DILI可能会通过影响肠道屏障，致内毒素外漏，加重肝脏炎症损伤。

肝脏与肠道通过“肠-肝轴”相连，共同参与机体免疫功能，具有双向调节作用，肠道菌群可以通过“肠-肝轴”影响肝脏疾病的发生和转归，肝脏疾病也可能导致菌群的结构和组成发生变化[20-21]。最新研究表明，肠道菌群失调会影响APAP的磺化，导致肝脏中APAP的堆积，加重DILI[5]；同时肠道菌群还可以调节APAP昼夜节律性肝损伤[22]。本研究选择16S rDNA测序技术分析APAP致小鼠肝损伤肠道菌群的变化特征，发现小鼠肠道菌群的多样性、结构及组成均明显改变。在菌门水平上，APAP组小鼠肠道Verrucomicrobia丰度减少，而Actinobacteria和Proteobacteria增加，两组小鼠的绝对优势菌Firmicutes和Bacteroidetes未发生明显变化。在属水平上，APAP组的*Acinetobacter*丰度增加，*Akkermansia*减少。Proteobacteria含有条件致病菌及病原菌，其中革兰阴性菌产生LPS，肠源性内毒素上升，导致肠源性内毒素血症，恶化肝脏损伤[23]。研究发现，Actinobacteria和Proteobacteria的增加在酒精性肝损伤的发展中起致病作用，其作用机制和肝脏炎症有关[24]。*Akkermansia*归属于Verrucomicrobia，是1种常见的益生菌，在降解肠黏膜蛋白过程中发挥重要作用，通过增加黏液厚度增强肠道屏障功能[25]。结果表明，在APAP致小鼠DILI时，不影响肠道优势菌的种类，但会影响其组成和比例。进一步进行LEf Se差异分析和相关性分析结果也表明，对照组和APAP组之间显著差异菌群及部分差异性标志物种与肝损伤标志物、炎症因子、内毒素等有显著相关性，说明APAP致小鼠DILI与肠道微生态密切相关。

APAP致DILI小鼠肠道菌群的多样性、组成和结构均发生了变化，该变化可能会破坏肠道微生物稳态和肠道屏障，进一步影响肝脏疾病。本研究从肠道菌群的变化入手，揭示其在APAP致小鼠肝损伤中的作用，为APAP诱导的DILI机制研究开辟了新通路，但由于肠道微生物的组成结构复杂，肠道菌群与DILI之间的因果关系及具体作用机制还需要进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Lu Y, Zhang C, Chen Y H, et al. Immature mice are more susceptible than adult mice to acetaminophen-induced acute liver injury [J]. Sci Rep, 2017, 7: 42736.

[2] Brass E P, Burnham R I, Reynolds K M. Poison center exposures due to therapeutic misuse of nonprescription acetaminophen-containing combination products in the United States 2007-2016 [J]. Clin Toxicol, 2019, 57(5): 350-355.

[3] 孙健, 李璟, 彭兴武. 中药与肠道菌群的相互作用研究进展 [J]. 山东畜牧兽医, 2021, 42(5): 74-76.
Sun J, Li J, Peng X W. Research progress on the interaction between traditional Chinese medicine and intestinal flora [J]. Shandong J Animal Sci Vet Med, 2021, 42(5): 74-76.

[4] Chen T, Li R, Chen P. Gut microbiota and chemical-induced acute liver injury [J]. Front Physiol, 2021, 12: 688780.

[5] 贾可欣, 李寒, 刘闰平. 调和肝脾类中药治疗"肠-肝"轴相关疾病作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1609-1619.
Jia K x, Li H, Liu R p. Research progress on mechanism of traditional Chinese medicine with harmonizing liver and spleen in treatment of "gut-liver" axis related diseases [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(5): 1609-1619.

[6] Gong S H, Lan T, Zeng L Y, et al. Gut microbiota mediates diurnal variation of acetaminophen induced acute liver injury in mice [J]. J Hepatol, 2018, 69(1): 51-59.

[7] Yip L Y, Aw C C, Lee S H, et al. The liver-gut microbiota axis modulates hepatotoxicity of tacrine in the rat [J]. Hepatology, 2018, 67(1): 282-295.

[8] 吴冬雪, 李玉红, 裴盛斐, 等. 基于16S rDNA测序技术分析异烟肼致大鼠肝损伤中肠道菌群变化特征 [J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(9): 1374-1378.
Wu D X, Li Y H, Pei S F, et al. Analysis of gut microbiota changes in isoniazid-induced rats based on

16S rDNA sequencing technology [J]. Acta Univ Med Anhui, 2021, 56(9): 1374-1378.

[9] 杨璐铭, 郝金奇, 王林, 等. 基于 16S rDNA 测序技术分析利福平致大鼠肝损伤中肠道菌群变化特征 [J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(9): 1469-1474.
Yang L M, Hao J Q, Wang L, et al. 16S rDNA analysis of characteristic changes of intestinal flora in rat liver injury model by rifampicin [J]. Acta Univ Med Anhui, 2022, 57 (9): 1469-1474.

[10] McGill M R, Jaeschke H. Animal models of drug-induced liver injury [J]. Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis, 2019, 1865(5): 1031-1039.

[11] 杨晨茜, 姚冬梅. 药物性肝损伤发病机制及诊断标志物研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2021, 29(13): 726-732.
Yang C Q, Yao D M. Research advances in pathogenesis and diagnostic markers of drug-induced liver injury [J]. World Chin J Dig, 2021, 29(13): 726-732.

[12] Jaeschke H, Xie Y C, McGill M R. Acetaminophen-induced liver injury: From animal models to humans [J]. J Clin Transl Hepatol, 2014, 2(3): 153-161.

[13] McGill M R, Williams C D, Xie Y C, et al. Acetaminophen-induced liver injury in rats and mice: Comparison of protein adducts, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the mechanism of toxicity [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 264(3): 387-394.

[14] 章越, 聂源, 朱萱. 生物标志物在药物性肝损伤的应用进展 [J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(4): 663-666.
Zhang Y, Nie Y, Zhu X. Application progress of biomarkers in drug-induced liver injury [J]. Acta Univ Med Anhui, 2021, 56(4): 663-666.

[15] 毛竹, 朱继孝, 曾金祥, 等. 短管兔耳草提取物对对乙酰氨基酚诱导小鼠药物性肝损伤的保护作用与机制 [J]. 中成药, 2022, 44(9): 3004-3008.
Mao Z, Zhu J X, Zeng J X, et al. Protective effect and mechanism of rabbit ear grass extract on acetaminophen-induced drug-induced liver injury in mice [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(9): 3004-3008.

[16] 吴迪, 谢春娥, 李峰, 等. 基于肠-肝轴探讨茵陈苓桂剂对非酒精性脂肪性肝病大鼠肠黏膜屏障的作用研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(6): 571-577.
Wu D, Xie C E, Li F, et al. Effect of Yinchen Linggui prescription on intestinal mucosal barrier in rats with non-alcoholic fatty liver disease based on gut-liver axis [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2021, 30(6): 571-577.

[17] 王伟荣, 周仙仕, 叶烨. 脓毒症发病的肠-肝轴机制及下法的调节作用 [J]. 新中医, 2017, 49(3): 159-161.
Wang W R, Zhou X S, Ye Y. Mechanism of intestinal-liver axis in *Sepsis* and regulatory effect of purgation method [J]. J New Chin Med, 2017, 49(3): 159-161.

[18] Chen M J, Huang H J, Zhou P C, et al. Oral phosphatidylcholine improves intestinal barrier function in drug-induced liver injury in rats [J]. Gastroenterol Res Pract, 2019, 2019: 8723460.

[19] Gong J Y, Ren H, Chen H Q, et al. Magnesium isoglycyrrhizinate attenuates anti-tuberculosis drug-induced liver injury by enhancing intestinal barrier function and inhibiting the LPS/TLRs/NF-κB signaling pathway in mice [J]. Pharmaceuticals, 2022, 15(9): 1130.

[20] 候静, 路越, 张德凯. 肠道菌群失调与肝脏疾病的关系 [J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(5): 1128-1132.
Hou J, Lu Y, Zhang D K. Association between intestinal dysbacteriosis and liver diseases [J]. J Clin Hepatol, 2018, 34(5): 1128-1132.

[21] 王丹丹, 宋佳, 张晓岚. 肠道菌群在肝脏疾病中的作用 [J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(9): 2120-2123.
Wang D D, Song J, Zhang X L. Research advances in the role of gut microbiota in liver diseases [J]. J Clin Hepatol, 2019, 35(9): 2120-2123.

[22] 龚神海, 陈鹏, Gong S. 肠道微生物对对乙酰氨基酚昼夜节律性肝损伤的调节 [J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34 (8): 1762.
Gong S H, Chen P, Gong S. Regulation of intestinal microorganisms on acetaminophen circadian rhythm liver injury [J]. J Clin Hepatol, 2018, 34(8): 1762.

[23] 王春妍, 曹宇, 郭远强, 等. 硫代乙酰胺所致急性肝损伤大鼠肠道菌群的变化 [J]. 肝脏, 2020, 25(12): 1334-1336, 1347.
Wang C Y, Cao Y, Guo Y Q, et al. Research on changes of intestinal flora in rats with acute liver injury induced by thioacetamide [J]. Chin Hepatol, 2020, 25(12): 1334-1336, 1347.

[24] Kirpich I A, Petrosino J, Ajami N, et al. Saturated and unsaturated dietary fats differentially modulate ethanol-induced changes in gut microbiome and metabolome in a mouse model of alcoholic liver disease [J]. Am J Pathol, 2016, 186(4): 765-776.

[25] Liu H L, Liu M H, Fu X Q, et al. Astaxanthin prevents alcoholic fatty liver disease by modulating mouse gut microbiota [J]. Nutrients, 2018, 10(9): 1298.

[责任编辑 兰新新]