

中草药相关肝损伤诊断的现状与进展

吕东霞¹, 张帆^{1,2}, 秦佳琪³, 张慧雨¹, 贺震¹, 魏玉辉^{1,2*}

1. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃 兰州 730000

2. 兰州大学第一医院, 甘肃 兰州 730000

3. 兰州大学药学院, 甘肃 兰州 730000

摘要: 随着中草药的广泛应用, 有关中草药相关肝损伤 (herb-induced liver injury, HILI) 的病例报道显著增加, 然而中药及其代谢产物成分繁杂, 其所诱导肝损伤的物质基础及机制也较为复杂, 导致 HILI 的诊断存在一定困难。目前临床诊断 HILI 主要依据 Roussel Uclaf 因果关系评价法、整合证据链法、结构化专家观点程序法及中医诊断等方法, 各有其优缺点; 早期诊断对于 HILI 的防治具有重要意义, 而特异性生物标志物的筛选是最有潜力的方向, 目前处于研发阶段。为此, 在论述 HILI 的常见发病机制的基础上, 对 HILI 的临床诊断方法的现状及早期诊断生物标志物的研究进展进行综述, 为 HILI 的诊疗及相关研究提供参考。

关键词: 中草药相关肝损伤; 毒理机制; 诊断; 生物标志物; 蛋白质组学; 转录组学; 代谢组学; 基因组学

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)05-1761-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.05.033

Current status and advance of diagnosis of herb-induced liver injury

LYU Dongxia¹, ZHANG Fan^{1,2}, QIN Jiaqi³, ZHANG Huiyu¹, HE Zheng¹, WEI Yuhui^{1,2}

1. The First School of Clinical Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2. The First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

3. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: With the widespread application of Chinese herbal medicines, the reported cases of herb-induced liver injury (HILI) have increased significantly. Ascribing to the componential complexity of traditional Chinese medicines (TCM) and their metabolites, the material basis and mechanisms of HILI are complex, which results in certain difficulties in the diagnosis of HILI. Currently, the clinical diagnosis of HILI is mainly based on the Roussel Uclaf causality evaluation method, integrated evidence chain method, structured expert opinion procedure method, and TCM diagnosis methods, and these diagnosis methods have their advantages and disadvantages. Moreover, early diagnosis is of great significance for the prevention and treatment of HILI, and screening specific biomarkers is the most potential direction, which is currently in the research and development stage. Therefore, this paper review summarizes the common pathogenesis mechanisms of HILI, the current clinical diagnosis methods involved in HILI, and the research advance of biomarkers for the early diagnosis of HILI, which is expected to provide a cure for the diagnosis and treatment of HILI and related research.

Key words: herb-induced liver injury; toxicological mechanisms; diagnosis; biomarker; proteomics; transcriptomics; metabolomics; genomics

药物性肝损伤 (drug-induced liver injury, DILI) 是指继发于药物使用后, 由药物和/或药物代谢物引起的肝脏损伤, 常由各类处方药和非处方药、生物

制剂、传统中药、草药、保健品及膳食补充剂等引起^[1-2]。随着中医药的发展和广泛使用, 中药、天然药物及相关制剂引起的肝损伤, 称之为中草药相关

收稿日期: 2023-10-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82174067); 国家自然科学基金资助项目 (81960646); 兰州大学本科生科研创新项目 (20230060005, 20220060116)

作者简介: 吕东霞, 硕士研究生, 研究方向为中药肝损伤的诊断。E-mail: 220220907280@lzu.edu.cn

*通信作者: 魏玉辉, 主任药师, 博士生导师, 从事中药药理和毒理研究。E-mail: yhwei@lzu.edu.cn

肝损伤^[3] (herb-induced liver injury, HILI) 的报道也逐渐增多, 并已成为造成 DILI 的主要原因^[4]。相关数据显示, 中草药诱发 DILI 的占比已超过 45.43%, 并且这一比例逐年增加^[5-7]。诊断和治疗是疾病防治的 2 个关键组成, HILI 也不例外。然而, 由于中药成分繁多, 作用机制复杂, 有关 HILI 的物质基础和毒效机制较难明确, 且目前研究尚处于初始阶段, 临床缺乏治疗 HILI 的有效药物和手段。因此, 诊断尤其是早期诊断对于避免 HILI 的发生和发展及在可逆期的及时停药、干预等疾病防治方面具有重要意义, 建立 HILI 的诊疗指南亦十分必要。基于此, 本文就 HILI 诊断的现状和研究进展进行综述, 为 HILI 的合理诊疗及相关指南的建立提供思路。

1 HILI 的毒理机制

近年来, 中草药由于其显著的药效和独特的治疗特征, 在全球范围内被广泛应用, 然而其造成药物不良反应的报道也越来越多, HILI 是其中最主要的不良反应, 严重者可导致死亡, 全面了解引起 HILI 的原因及毒效机制, 对于诊断和治疗 HILI 具有重要意义。目前研究发现与 HILI 相关的毒性机制可大致分为特异质 DILI (idiosyncratic DILI, IDILI)、细胞色素 P450 酶系 (cytochrome P450, CYP450) 相关肝损伤、氧化应激损伤、线粒体损伤和胆汁淤积型肝损伤 5 大方面^[6,8]。

1.1 IDILI

IDILI 具有剂量无关性、不可预测性、个体差异大等特点, 是导致 HILI 中十分常见的一个原因。其中免疫特异质肝损伤与机体的免疫炎症状态有关, 是最为常见的诱发 HILI 的机制之一。在一篇回顾性研究中发现, 在 243 例 HILI 病例中, 有 53.9% 的病例肝活检发现其肝组织中有多种免疫细胞浸润, 还发现多种自身抗体的产生, 属于免疫介导性的肝损伤^[9]。有研究表明, 何首乌、补骨脂、雷公藤、白鲜皮等具有明确肝损伤的中药所致 HILI 属于特异质型肝损伤, 如从补骨脂中分离的补骨脂定可显著减少细胞数、引起细胞核面积增大、细胞内脂质累积增多、活性氧水平升高等, 造成肝损伤^[10]。Li 等^[11]研究发现何首乌所致的 HILI 并无明显的剂量相关性, 并且当个体携带与免疫反应发生相关的人类白细胞抗原 *HLA-B*35:01* 基因时, 发生肝损伤的风险会大大增加。

1.2 CYP450 相关肝损伤

CYP450 是体内介导药物代谢最重要的酶系,

其主要介导药物经代谢后的解毒, 但有时也会增加药物的毒性, 如对乙酰氨基酚诱导的肝损伤主要与其经酶代谢后的中间产物有关^[12]。研究表明大部分中药在体内都会经过 CYP450 代谢, 而其中一些中药及其主要成分可以通过肝脏 CYP450 代谢酶代谢产生毒性成分, 从而导致肝损伤的发生, 如千里光、款冬花、菊三七等。研究发现, 菊三七中主要的毒性成分吡咯里西啶类生物碱 (pyrrolizidine alkaloids, PAs) 经 CYP450 代谢活化产生代谢吡咯, 引起肝窦阻塞综合征的发生, 从而导致肝脏损伤^[13]。此外, 中药主要成分导致的肝损伤还可能与其干扰 CYP450 活性或表达有关, 其中包括何首乌、雷公藤、栀子等引起的肝损伤。王呈谕等^[14]发现何首乌水提物及其主要毒性成分诱导的肝损伤主要与其抑制 CYP2D6 活性或表达有关, 并且发现在使用 CYP2D6 抑制剂的情况下, 何首乌水提物会进一步加重肝损伤; 张帆等^[15]研究发现, 栀子主要致毒性成分京尼平可经肝脏 CYP3A4、磺基转移酶家族 2A 成员 1 和尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1 介导解毒, 相关代谢酶的表达和活性与京尼平肝损伤密切相关。

1.3 氧化应激损伤

氧化应激损伤是指机体在有害物质的刺激作用下, 氧化和抗氧化作用失衡而导致组织器官损伤的一种状态。研究发现中药及其成分可导致氧化应激失衡而引发肝损伤, 如大黄、柴胡、雷公藤等。杨冬^[16]发现大黄中的主要活性成分大黄酸可竞争性抑制氧化应激相关物质外排有关的多药耐药相关蛋白 2 (multidrug resistance-associated protein 2, MRP2), 使细胞内与氧化应激有关的物质 (如谷胱甘肽结合物、脂质过氧化物等) 外排受阻, 导致氧化和抗氧化作用失衡, 进而导致肝损伤。吕丽莉等^[17]研究发现, 柴胡醇提物和水提物均能引起氧化应激因子丙二醛含量升高, 同时降低具有抗氧化作用的谷胱甘肽、谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶活性等, 从而导致氧化应激型肝损伤。雷公藤所致肝损伤主要是其主要活性成分雷公藤甲素激活核因子- κ B 信号通路, 增加活性氧的释放, 引起氧化应激, 进而导致肝损伤的发生^[18-19]。

1.4 线粒体损伤

线粒体是细胞的能量代谢中心, 是氧化呼吸链的重要组成部分, 当线粒体受损时, 往往会导致线粒体氧化应激及组织损伤的发生^[20]。雷公藤、黄药

子、栀子、何首乌、苍耳子等中药及其主要活性成分大多都是引起线粒体毒性的药物，可导致线粒体结构和功能的损伤最终造成肝损伤的发生。任艳青等^[21]通过高内涵分析技术发现栀子主要活性成分京尼平可以使细胞内线粒体膜电位降低、细胞色素 C 释放和细胞膜通透性增加而导致线粒体损伤，进而诱发肝损伤。Liu 等^[22]发现，生何首乌可以抑制大鼠肝组织中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATP 酶和 Na^{+} 、 K^{+} -ATP 酶的活性，从而影响肝细胞 ATP 的含量和线粒体 ATP 酶活性，导致线粒体损伤，进而引起肝损伤。

1.5 胆汁淤积型肝损伤

由于胆汁产生、分泌和排泄异常造成肝脏中毒性胆汁酸蓄积，最终导致肝损伤的发生，为胆汁淤积型肝损伤。何首乌可通过上调胆汁酸摄取转运体及胆汁酸合成酶 CYP7A1 的表达，同时抑制胆汁酸外排转运体，导致肝脏胆汁酸的蓄积，引发胆汁淤积型肝损伤^[23]。Wang 等^[24]发现补骨脂中的主要毒性成分补骨脂素和异补骨脂素可以通过抑制胆酸盐外排泵和 MRP2 等蛋白表达，抑制胆汁酸的外排，导致其在肝脏大量蓄积，最终引发肝损伤。

除上述常见肝损伤机制外，HILI 亦与脂质过氧化损伤、钙离子浓度平衡破坏、免疫激活介导的炎症因子释放、肝循环障碍、细胞凋亡、内质网应激等有关^[6,8,25-27]，且肝损伤的机制通常并不是单独存在，可能以某一损伤机制为主，亦可能相互协同共同导致 HILI 的发生和发展。可见，诱导 HILI 的分子机制复杂多样，增加了其诊断的难度。

2 HILI 的临床诊断

2.1 西医临床诊断

由于 HILI 机制复杂不清，目前尚未形成统一的诊断标准。西医临床诊断主要参考 2016 年中华中医药学会发布的《中草药相关肝损伤临床诊疗指南》^[28]中整合证据链法（integrated evidence chain, iEC）、中华医学会肝病学会药物性肝病学组制定的《药物性肝损伤诊治指南》^[2]中 Roussel Uclaf 因果关系评价法（Roussel Uclaf Causality Assessment Method, RUCAM）及美国胃肠病学会推荐的 DILI 诊断模式-结构化专家观点程序（structured expert opinion process, SEOP）3 种方法进行 HILI 的诊断。

2.1.1 RUCAM RUCAM 法广泛用于 DILI 的诊断，因其具有相对客观的评分系统及使用时间较长，可以帮助临床医生建立因果关系，也是现今评估中

药所致肝损伤因果关系的首选方法^[29]。RUCAM 法是详细收集具有丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase, ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（aspartate aminotransferase, AST）等异常肝生化指标或腹水、静脉曲张等临床表现患者的病史，采用实验室、病理或影像学等手段进行鉴别诊断，然后通过相应的诊断流程（图 1）采用 RUCAM 量表进行因果关系评分（目前首选 2016 年更新的 RUCAM 量表^[30]），同时可根据生化指标的变化进行临床分型。RUCAM 法依据《药物性肝损伤诊治指南》进行诊断评估，根据评分结果将药物与肝损伤的因果关系分为以下 5 级：>8 分极可能、6~8 分很可能、3~5 分可能、1~2 分不太可能及 ≤0 分可排除，其中推荐将 RUCAM 评分 ≥3 分考虑为药物与肝损伤间存在相关性。Bokan 等^[31]利用 RUCAM 评分法对 2 例南非醉茄所致肝损伤患者进行诊断时，其因果关系为“可能”。然而 RUCAM 诊断结果为相关性评分，不能明确诊断，又因其因果关系评分量表中某些因素权重过高及有些因素用于 HILI 诊断时存在局限性，影响 RUCAM 评分结果及其用于 HILI 诊断和分型的准确性。

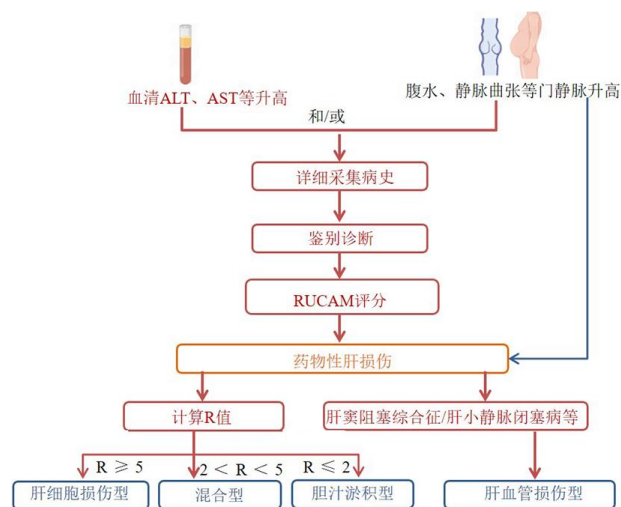


图 1 RUCAM 诊断流程图

Fig. 1 RUCAM diagnostic process chart

2.1.2 iEC iEC 法是在 RUCAM 因果关系评分法的基础上提出并建立的，主要用于 HILI 的诊断与鉴别诊断^[32]。iEC 法突出临床鉴别经验与实验室检测指标相结合，强调对中草药及相关制剂应用史和联合用药的调查，获取中草药的详细资料，并将基原鉴定、中草药伪混品、有害物质污染等检测及中草药特征代谢物的检测和中草药肝损伤体内特异性

生物标志物等检测指标纳入 HILI 诊断体系, 以此形成“疑似诊断”“临床诊断”及“确定诊断”3 级诊断标准, 构建完整的证据链, 进而提高 HILI 诊断的准确性, 降低误诊率。iEC 法诊断 HILI 的流程见图 2。黄奕雪等^[33]在对 1 例疑似中草药所致肝损伤的患者进行诊断时运用《中草药相关肝损伤临床诊

疗指南》中推荐的 iEC, 根据 iEC 的诊断流程, 确证此病例为临床诊断 HILI。何婷婷等^[34]通过选取 3 例典型的病例运用 iEC 法分别将肝损伤诊断为“疑似诊断”“临床诊断”及“确定诊断”, 此过程详细分析了 iEC 法的诊断流程, 更加明确了 iEC 法诊断 HILI 的证据链条。

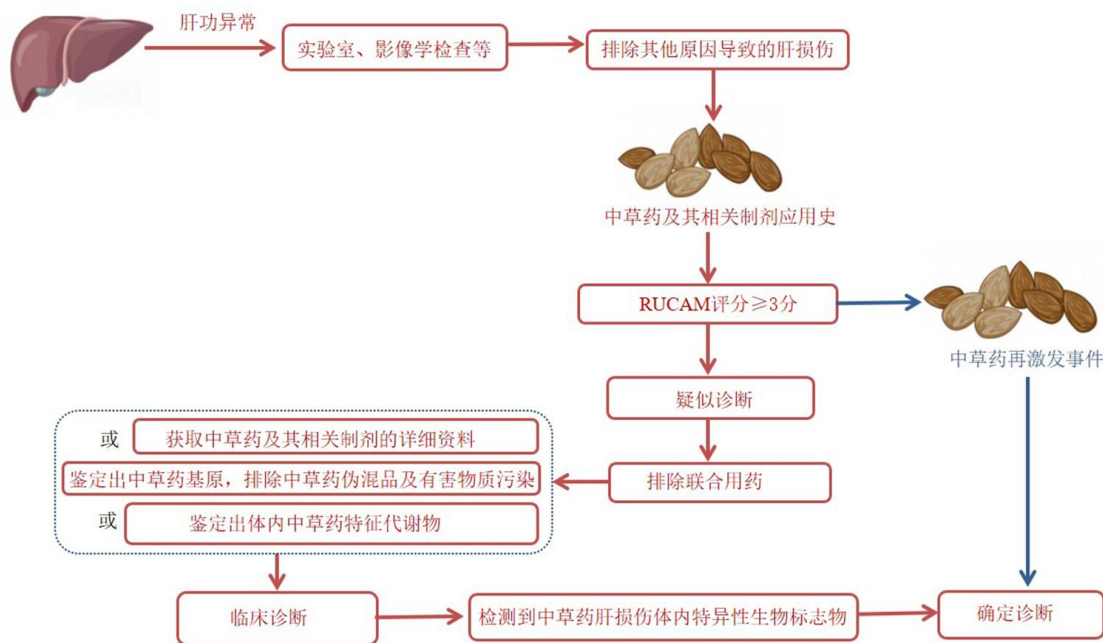


图 2 基于整合证据链的 HILI 诊断流程图

Fig. 2 HILI diagnostic process chart based on an integrated evidence chain

iEC 法通过构建证据链来诊断 HILI 可以使诊断结果更具客观性, 并且临床可操作性强。因为前瞻性调查可获得的资料更为全面, 所以相比于回顾性分析, iEC 法对于 HILI 的前瞻性调查具有更高的因果关系^[35]。虽然 iEC 法比 RUCAM 法更加客观, 但可能是因为 iEC 法提出时间较晚, 并且诊断流程相比 RUCAM 更加复杂, 使用 iEC 诊断 HILI 的普及范围不是很广, 目前更多的是使用 RUCAM 法来诊断 HILI。

2.1.3 SEOP SEOP 法是一种基于专家意见的共识性的因果关系评估策略。SEOP 法通过收集完整的病例资料及查询药物肝损伤信息, 形成多达 65 页的临床病例审查表, 交由 3 位专家评估者独立评估打分, 从而评估 HILI 因果关系。根据评估结果, 将药物与肝损伤的因果关系分为以下 5 级进行相关的鉴别诊断^[36] (表 1)。然而, 由于 SEOP 法需要 3 位专家来进行独立评估, 具有主观性且较为费时费力, 临床无法大规模采用且不易推广, 故使用并不广泛。

以上 3 种诊断 HILI 的方法各有其优缺点, 其中

表 1 SEOP 法因果关系评估

Table 1 SEOP causality assessment

因果关系评分	可能性	说明
明确	>95%	排除任何合理的怀疑
高度可能	75%~95%	清楚或令人信服但并不确定
较可能	50%~74%	证据优势支持存在因果关系
有可能	25%~49%	药物与肝损伤的关系可疑但不能排除其可能性
不可能	<25%	有其他病因而非某种药物引起肝损伤的证据

RUCAM 法虽是使用最广泛的方法, 但其诊断结果为相关性评分, 且其评分量表中涉及的一些评价因素对于诊断 HILI 具有一定的局限性; iEC 法相比其他 2 种方法最显著的优点是其客观性较强, 并且可以明显减少误诊漏诊病例, 但其在临床上使用并不广泛。与其他 2 种诊断方法相比, SEOP 法具有明显的主观性, 不同专家对同一病例可作出不同的判断, 但也有可能可以提高诊断的准确性, 此外 SEOP 法

较为耗时，大量开展和推广受限。有关 3 种诊断方法特征的对比分析见表 2。因 3 种诊断方法的特征差异，其在 HILI 诊断时可能存在一定的偏差。何婷婷

等^[37]利用 3 种方法在对 HILI 病例进行诊断时发现，RUCAM 法相比其他 2 种方法临床诊断率和 HILI 构成比最高，iEC 法相对减少了误诊和漏诊病例。

表 2 3 种诊断方法特征的对比分析^[36-40]

Table 2 Comparative analysis of characteristics of three diagnostic methods

说明	诊断模式	诊断结果	客观性	临床诊断率	HILI/DILI 构成比	因果关系	适用性
RUCAM 法	量表评分模式	相关性诊断	相对客观	—	相对于 IEC 法较高，其中夹杂着误诊病例	将更多的病例纳入较低的因果评分中，即“很可能”与“可能”	“药物肝损伤已知情况”和“合并用药”2 项评分用于诊断 HILI 时有局限性
iEC 法	证据链形式	可确定诊断	客观性较强	可以提高临床诊断率，减少误诊漏诊病例	与 RUCAM 法相比，降低了构成比	—	适用于 HILI 诊断，临床可操作性强
SEOP 法	专家评估模式	可明确诊断	主观性较高	相比 iEC 法较低	较低，其中有漏诊病例	将更多地病例纳入较高等级的因果关系即“明确”与“极可能”	耗时耗力，临床研究中难以开展

“—”表示未提及。

“—”indicates that it is not mentioned.

2.2 中医诊断

相比西医诊断而言，中医通常采用中医四诊法即望、闻、问、切 4 种诊断方法进行疾病的诊断及中医证型分型，更注重整体观念及宏观思维（天人合一、阴阳协调），要求诊法合参（四诊法相结合诊断疾病）及病证结合，即辨病辨证结合起来，认识疾病的本质，进行疾病的诊断，与 HILI 的关联性更强，也符合 HILI 诊断逻辑。中医诊断借助四诊法以无创伤性的方式获取病理资料，以整体性、动态性、宏观性的诊断思维及辨证论治的基本特点区别于西医诊断，更能反应疾病的真实情况，并因人而异将 HILI 更为细致地分为不同证型，能够更好和系统地进行疾病的诊断和治疗。研究者在对 HILI 患者进行中医辨证分型时发现，HILI 可分为肝郁脾虚、湿热黄疸、气滞血瘀、肝肾阴虚和寒湿瘀阻等 5 种证型^[38]，且证型间实验室指标及肝损伤的严重程度也存在差异，为 HILI 患者的诊治及预后判断提供了帮助。在中医诊断时，正确进行中医证型分型可以有效降低临床误诊率。唐颖慧等^[40]在探讨急性 DILI 患者中医证候分布特征时发现，在住院患者中，DILI 的误诊率达到了 17.1%，并且在纳入的 194 例患者中，有 50.5% 的患者肝损伤是由中草药导致的。可见，正确的中医证型分型尤为重要。在中医诊断中，经验思维有着举足轻重的地位，其不仅是对信息感性的输入，更是对信息整合并理性输出的过程，临

床工作中，经验丰富的临床医生根据其储备的丰富的临床经验能够很快做出临床决策，以此来帮助诊疗。然而，中医诊断因更多依赖于医生的诊疗经验，目前缺乏客观评估指标及统一的诊疗标准如诊断指南，存在一定的局限性，有待进一步完善，但其诊疗地位是不可取代的。如唐文等^[41]认为中医经验思维虽然有着一定的局限性，但其在诊断中的优势是不可替代的，在临床工作中要结合经验思维和理性思维，从而更好地进行临床诊断。

3 HILI 的早期诊断

随着中草药的广泛应用，传统安全无毒的中草药导致的肝损伤已引起国内外临床工作者的关注，越来越多关于中草药毒性的报道严重制约了中草药的应用和发展。但是由于中草药种类繁多，成分复杂，作用机制不明，缺乏客观明确的诊断方法，使预防和诊断 HILI 变得尤为困难。有相关研究发现，大多数的 HILI 患者经停药后可痊愈，预后良好，但也有极少部分患者病情加重，甚至死亡^[42]。HILI 的早期诊断对于易感个体的早期筛查或已知 HILI 患者可逆期的及时停药可以防止肝损伤进一步发展，显著降低肝损伤的风险。因此，寻求新的诊断方式尤其是早期预测和诊断的实现，对于防治 HILI 具有重要意义，其中特异性生物标志物的筛选是最有潜力的研发方向。目前发现与 HILI 早期诊断相关的新的生物标志物可大致归为蛋白质组学、转录组

学、基因组学及代谢组学 4 大类。

3.1 蛋白质组学

当药物进入机体后, 机体内的蛋白质表达会出现一定的变化, 通过分析这些差异表达的蛋白质, 可以找到与疾病相关的蛋白质, 进而用于疾病的早期诊疗。属于蛋白质组的生物标志物有抗微粒体环氧化物水解酶自身抗体、吡咯-蛋白加和物 (pyrrole-protein adducts, PPAs)、细胞因子等。研究表明, 中药石蚕引发的肝损伤患者血清中可以监测到抗微粒体环氧化物水解酶自身抗体^[28]。PPAs 是引发 HILI 的关键毒性成分之一, 研究发现有相当一部分的中草药含有 PPAs, 如千里光、菊三七、款冬花、紫草等^[43], 而含有不饱和 PPAs 的中草药在 CYP450 的作用下代谢活化后产生毒性代谢吡咯, 继而与 DNA、RNA、蛋白质等共价结合形成 PPAs, 其在形成后比较稳定, 可以将其作为一种特异性生物标志物, 用于 HILI 的早期诊断^[44]。Zhu 等^[45]通过检测血液中 PPAs 成功诊断了 1 例误食菊三七所致的 HILI。研究还发现, 血清中的细胞因子包括肿瘤坏死因子- α 、趋化因子配体 2 和血管内皮生长因子的组合可以作为预测何首乌-DILI 易感人群的生物标志物^[46]。另外, 细胞角蛋白 18、高迁移率族蛋白 B1、谷氨酸脱氢酶 (glutamate dehydrogenase, GLDH) 等作为 DILI 生物标志物的研究较多, 目前有关 HILI 的研究虽较少, 但有望成为 HILI 诊断的特异性生物标志物, 需更深入研究证实^[47-48]。

3.2 代谢组学

代谢组学是研究生物体小分子代谢物变化, 可与生物表型变化建立直接相关性, 并可以用来寻找与之有关的生物标志物, 从而借以评价机体生理病理状态的一个关键方法, 是 HILI 早期诊断生物标志物筛选的主要方向。与肝脏密切相关的胆汁酸代谢是近年来研究较多的与 HILI 相关的生物标志物。因胆汁酸由肝脏合成, 当药物导致肝脏受损时, 胆汁酸的代谢水平也会发生一定改变, 因此可用胆汁酸代谢组学技术分析胆汁酸代谢紊乱与肝损伤发生发展的关系, 并由此寻找药物致肝损伤的生物标志物。近年来, 研究者利用代谢组学技术研究中药生物标志物时发现胆汁中甘氨酸胆酸和血清中猪脱氧胆酸可以作为何首乌所致肝损伤的预测和诊断的潜在生物标志物, 并为进一步探讨何首乌致肝损伤的机制奠定了基础^[49]。另外, 白鲜碱是中药白鲜皮的主要肝损伤成分, 研究发现给予白鲜碱的小鼠其

差异表达代谢物包括鹅去氧胆酸、牛磺胆酸和胆酸盐, 可以作为其 HILI 诊断的潜在生物标志物, 并且发现白鲜碱所致 HILI 的发病机制与这些生物标志物密切相关^[27]。研究表明雄黄是具有明确肝损伤的一味中药, 吴欣雨^[50]利用靶标代谢组学技术分析雄黄致肝损伤的早期标志物时发现牛磺熊去氧胆酸在给药小鼠的血浆及肝组织中均显著升高并与氧化应激指标相关程度较高, 牛磺熊去氧胆酸可以作为雄黄致肝损伤的敏感生物标志物。代谢组学技术广泛应用于生物标志物的研究, 但机体内的代谢物复杂多样且易受到多种因素影响, 因此利用代谢组学筛选的生物标志物用于 HILI 早期诊断还需进一步深入研究及验证。

3.3 转录组学

转录组学是研究基因转录后对于 RNA 的检测和分析。微小 RNA (microRNAs, miRNA) 是转录组学中一类典型的可用于 HILI 诊断的潜在特征性生物标志物。Su 等^[51]研究发现血清 miRNAs (miR-122、miR-192 和 miR-193) 的水平在黄药子诱导肝损伤动物模型中明显的升高, 可以作为诊断 HILI 的敏感、特异的生物标志物。曾瑾等^[52]在研究苍耳子致大鼠肝损伤时发现, 给药 7 d 后大鼠血清中精氨酸酶 I、 α -谷胱甘肽 S 转移酶、GLDH 及 miR-122 均发生明显变化, 这些标志物特异性和敏感性均优于传统的肝损伤生化指标: ALT、AST、碱性磷酸酶等, 其中以 miR-122 的特异性和敏感型最高。王汎江^[53]通过将基因芯片技术应用到菊三七致肝窦阻塞综合征的样本中后, 筛选得到了差异表达的 miRNA, 通过验证, 最终筛选得到 3 个可作为菊三七介导肝窦阻塞综合征的潜在生物标志物 miR-148a-3p、miR-362-5p、miR-194-5p。在转录组生物标志物的研究中 miRNA 的研究较为普遍, miRNA 作为中药致肝损伤的生物标志物, 相比传统的肝损伤生物标志物具有更高的灵敏性和特异性, 因此 miRNA 或许可以作为中药致肝损伤早期诊断的一类有力指标。此外, 在研究川楝子-HILI 血清生物标志物时, 通过长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 基因芯片技术结合实时定量聚合酶链式反应技术, 最终得到了可以表征川楝子-HILI 的 3 个 LncRNA 血清生物标志物 AK017411、AK003718、XLOC_019815^[54]。目前, 转录组生物标志物研究比较成熟的是 miRNA, 但是 miRNA 只是转录组当中占比比较小的一部分, 随着研究的不断深入和扩展,

未来会发现更多有价值的生物标志物,为 HILI 的诊断奠定基础。

3.4 基因组学

基因组相关多态性的检测,对于 HILI 尤其是特异性 HILI 早期预防和诊断具有重要意义,如 *HLA-B* 基因多态性与何首乌、补骨脂等多个典型 HILI 有关。Li 等^[1]研究发现,携带 *HLA-B*35:01* 等位基因的患者,其肝损伤的发生率显著增加,因此 *HLA-B*35:01* 等位基因可以作为何首乌致肝损伤敏感特异的生物标志物。应用基因组学技术寻找 HILI 致病基因及生物标志物,进而进行肝损伤的早期诊断及治疗具有重要作用。目前,虽然这方面研究较少,但相信随着基因组测序技术的不断发展,有助于发现更多特异的生物标志物,帮助 HILI 患者早期诊断及治疗。

当前,对于 HILI 的特征性标志物的研究虽取得一定进展,但由于中草药及其成分繁多且引起肝损伤的原因和机制复杂多样,使 HILI 的特征性标志物目前主要处于研究阶段,将其应用于临床仍需大量的研究与论证。

4 结语与展望

中草药的药效及价值不言而喻,但随着 HILI 的报道的不断增多严重限制了中草药的应用和发展,其中 HILI 毒性机制不明是主要限制因素之一。目前有关 HILI 机制主要涉及 IDILI、CYP450 相关肝损伤、氧化应激损伤、线粒体损伤和胆汁淤积型肝损伤 5 大类,但具体的分子机制及毒性物质基础仍需不断深入研究。由于自身的复杂性及毒性机制不清,导致临床至今仍缺少 HILI 诊断的有效方法和客观统一的标准,目前临床主要借鉴西医 DILI 的诊断方法包括 RUCAM 法、iEC 法和 SEOP 3 种方法进行 HILI 诊断,但此 3 种方法对于 HILI 诊断均具有一定的局限性而影响了诊断效果。中医诊断虽符合中药应用逻辑,但主要取决于中医的个人经验而缺少客观的指标和统一的标准,限制了其应用。因此,寻找与 HILI 诊断尤其是早期诊断密切相关的指标、方法和标准对于防治 HILI 具有重要意义的,其中以筛选可用于 HILI 早期诊断的内源性生物标志物虽存在许多瓶颈,但仍为目前最有潜力的方向之一。HILI 不管是运用西医还是中医的诊断方式都存在一定的不足,如何弥补其不足将是未来亟待探讨和解决的问题。随着科学技术的快速发展和研究者的不断探索,目前四诊的客观化已初具雏形,

计算机辅助医疗也在不断地发展,相信一定可以突破瓶颈建立 HILI 的诊断方法和标准,推动中医药的长足发展。另外,利用组学技术寻找生物标志物进而进行早期诊断对于 HILI 的防治和预后评价具有重要作用,目前虽未获得可用于临床诊疗的生物标志物,但在组学、生信分析等多种生物科学技术的快速发展将显著推动此方面的研发进展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 蔡琼,杨星月,李芝奇,等.基于机体状态和功能因素探讨药物诱导肝损伤的研究进展[J].中草药,2022,53(17): 5523-5530.
- [2] 于乐成,茅益民,陈成伟.药物性肝损伤诊治指南[J].实用肝脏病杂志,2017,20(2): 257-274.
- [3] 郑恬,孙志广.中药肝损伤机制的研究进展[J].广西中医药,2021,44(4): 65-67.
- [4] 张凯,董晓敏,王琦,等.常用中药肝毒性成分代谢与毒理研究进展[J].中草药,2018,49(22): 5435-5447.
- [5] Shen T, Liu Y X, Shang J, et al. Incidence and etiology of drug-induced liver injury in mainland China [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(8): 2230-2241.
- [6] 陈宇征,吕文良.中药导致药物性肝损伤的机制研究进展[J].中国中医基础医学杂志,2015,21(11): 1476-1478.
- [7] 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.
- [8] Pan X Q, Zhou J, Chen Y, et al. Classification, hepatotoxic mechanisms, and targets of the risk ingredients in traditional Chinese medicine-induced liver injury [J]. *Toxicol Lett*, 2020, 323: 48-56.
- [9] Zhu J Q, Chen M J, Borlak J, et al. The landscape of hepatobiliary adverse reactions across 53 herbal and dietary supplements reveals immune-mediated injury as a common cause of hepatitis [J]. *Arch Toxicol*, 2020, 94(1): 273-293.
- [10] 郭兆娟.补骨脂肝毒性的药物因素、毒性机制及物质基础研究[D].北京:北京中医药大学,2021.
- [11] Li C P, Rao T, Chen X P, et al. *HLA-B*35: 01* allele is a potential biomarker for predicting *Polygonum multiflorum*-induced liver injury in humans [J]. *Hepatology*, 2019, 70(1): 346-357.
- [12] Kumar S, Singla B, Singh A K, et al. Hepatic, extrahepatic and extracellular vesicle cytochrome P450 2E1 in alcohol and acetaminophen-mediated adverse interactions and potential treatment options [J]. *Cells*, 2022, 11(17): 2620.
- [13] 程敏,汤俊.菊三七中吡咯里西啶类化学成分及其药

- 理毒理作用的研究进展 [J]. 中国药师, 2018, 21(12): 2206-2210.
- [14] 王呈谕, 李登科, 全正扬, 等. 基于细胞色素氧化酶 CYP2D6 的何首乌肝细胞毒性及相关成分研究 [J]. 中国药物警戒, 2021, 18(3): 220-227.
- [15] Zhang F, Wang X H, A.Saad A A, *et al.* Hepatic CYP3A4, SULT2A1, and UGT1A1 synergistically mediate metabolic detoxification of genipin [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2022, 31(8): 608-621.
- [16] 杨冬. 基于MRP-氧化应激的大黄酸肝毒性及相关机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2022.
- [17] 吕丽莉, 黄伟, 于晓, 等. 不同柴胡组分对大鼠肝毒性与氧化损伤机制影响的研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(18): 2364-2368.
- [18] Ma Z T, Shi Z, Xiao X H, *et al.* New insights into herb-induced liver injury [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2023, 38(16/17/18): 1138-1149.
- [19] 周国梁, 宿树兰, 华永庆, 等. 雷公藤肝毒性机制及配伍减毒研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 8263-8272.
- [20] Sodeinde K O, Adeoye A O, Adesipo A, *et al.* Isolation, characterization and modulatory potentials of β -stigmasterol, ergosterol and xylopic acid from *Anchomanes difformis* on mitochondrial permeability transition pore *in vitro* [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(4): 533-541.
- [21] 任艳青, 田宇柔, 李琛, 等. 京尼平苷及其体内代谢产物京尼平对 HepG2 细胞毒性的比较及机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(12): 1755-1761.
- [22] Liu Y, Wang W P, Sun M Y, *et al.* *Polygonum multiflorum*-induced liver injury: Clinical characteristics, risk factors, material basis, action mechanism and current challenges [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1467.
- [23] 康丽. 基于胆汁酸转运体和代谢酶的何首乌致肝损伤机制研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2017.
- [24] Wang Y, Zhang H, Jiang J M, *et al.* Hepatotoxicity induced by psoralen and isopsoralen from *Fructus Psoraleae*: Wistar rats are more vulnerable than ICR mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 125: 133-140.
- [25] 彭朋, 元唯安. 中药药源性肝毒性的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(8): 1783-1792.
- [26] 李芝奇, 范琦琦, 陈美琳, 等. 中药肝毒性的物质基础与作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(13): 4082-4095.
- [27] Tu C, Xu Z Y, Tian L C, *et al.* Multi-omics integration to reveal the mechanism of hepatotoxicity induced by dictamnine [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 700120.
- [28] 朱云, 王伽伯, 李丽, 等. 中草药相关肝损伤临床诊疗指南 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(6): 645-653.
- [29] Teschke R, Larrey D, Melchart D, *et al.* Traditional Chinese medicine (TCM) and herbal hepatotoxicity: RUCAM and the role of novel diagnostic biomarkers such as microRNAs [J]. *Medicines*, 2016, 3(3): 18.
- [30] Danan G, Teschke R. RUCAM in drug and herb induced liver injury: The update [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 17(1): 14.
- [31] Bokan G, Glamočanin T, Mavija Z, *et al.* Herb-induced liver injury by ayurvedic ashwagandha as assessed for causality by the updated RUCAM: An emerging cause [J]. *Pharmaceuticals*, 2023, 16(8): 1129.
- [32] Wang J B, Zhu Y, Bai Z F, *et al.* Guidelines for the diagnosis and management of herb-induced liver injury [J]. *Chin J Integr Med*, 2018, 24(9): 696-706.
- [33] 黄奕雪, 郭玉明, 周永峰, 等. 基于整合证据链的白鲜皮粉末致肝损伤病例实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 600-606.
- [34] 何婷婷, 王伽伯, 柏兆方, 等. 基于《中草药相关肝损伤临床诊疗指南》的中药肝损伤诊断实例 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(24): 4893-4897.
- [35] Wang J B, Ma Z J, Niu M, *et al.* Evidence chain-based causality identification in herb-induced liver injury: Exemplification of a well-known liver-restorative herb *Polygonum multiflorum* [J]. *Front Med*, 2015, 9(4): 457-467.
- [36] 于乐成. 结构化专家观点程序 (SEOP) 和 RUCAM 法评估药物诱导性肝损伤的比较 [J]. 肝脏, 2011, 16(1): 60-61.
- [37] 何婷婷, 梁庆升, 王丽苹, 等. 整合证据链、Roussel Uclaf 因果关系评价法、结构化专家观点程序对药物性肝损伤的诊断效用分析 [J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(1): 141-147.
- [38] 何婷婷. 基于整合证据链的中草药相关肝损伤诊断方法的应用评价 [D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2017.
- [39] Rockey D C, Seeff L B, Rochon J, *et al.* Causality assessment in drug-induced liver injury using a structured expert opinion process: Comparison to the Roussel-Uclaf causality assessment method [J]. *Hepatology*, 2010, 51(6): 2117-2126.
- [40] 唐颖慧, 刘皎皎, 李粉萍, 等. 急性药物性肝损伤患者中医证候要素分布特征探讨 [J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(7): 8-12.
- [41] 唐文, 王洋, 张磊, 等. 中医经验思维的原理、局限性及纠误方法探讨 [J]. 中医杂志, 2023, 64(20): 2053-2056.
- [42] 常乙玲, 李娜. 何首乌及其制剂致药物性肝损伤系统性回顾研究 [J]. 中国药业, 2020, 29(19): 81-86.

- [43] 马跃新, 冯有龙, 吴嫣艳, 等. 中草药中毒性吡咯里西啶类生物碱分析方法研究进展及控制现状 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7645-7657.
- [44] Teschke R, Vongdala N, Quan N V, *et al.* Metabolic toxification of 1,2-unsaturated pyrrolizidine alkaloids causes human hepatic sinusoidal obstruction syndrome: The update [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10419.
- [45] Zhu L, Zhang C Y, Li D P, *et al.* Tu-San-Qi (*Gynura japonica*): The culprit behind pyrrolizidine alkaloid-induced liver injury in China [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(8): 1212-1222.
- [46] Tu C, Niu M, Wei A W, *et al.* Susceptibility-related cytokine panel for prediction of *Polygonum multiflorum*-induced hepatotoxicity in humans [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 645-655.
- [47] 许维国. 中草药导致药物性肝损伤的现状 & 研究进展 [J]. 中国处方药, 2020, 18(6): 14-16.
- [48] Teschke R, Eickhoff A, Brown A C, *et al.* Diagnostic biomarkers in liver injury by drugs, herbs, and alcohol: Tricky dilemma after EMA Correctly and officially retracted letter of support [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1): 212.
- [49] Dong Q, Li N, Li Q, *et al.* Screening for biomarkers of liver injury induced by *Polygonum multiflorum*: A targeted metabolomic study [J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 217.
- [50] 吴欣雨. 基于靶标代谢组学策略的雄黄诱导肝损伤小鼠胆汁酸类生物标志物研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2022.
- [51] Su Y W, Chen X, Jiang Z Z, *et al.* A panel of serum microRNAs as specific biomarkers for diagnosis of compound- and herb-induced liver injury in rats [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37395.
- [52] 曾瑾, 唐绍微, 刘云华, 等. 基于敏感生物标志物的苍耳子生品与炒品肝毒性实验研究 [J]. 中药药理与临床, 2018, 34(3): 122-125.
- [53] 王汛江. 菊三七致肝窦阻塞综合征的 miRNA 生物标志物筛选及机制初探 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2023.
- [54] 杨睿, 李萍, 张伟, 等. 长链非编码 RNA 作为川楝子急性肝毒性血清生物标志物的研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2021, 35(5): 32-37.

[责任编辑 赵慧亮]