

## 基于蛋白质组学探讨甘草次酸与甘草酸改善顺铂诱导急性肝损伤的作用机制

唐山珊<sup>1</sup>, 张剑<sup>1</sup>, 杨健<sup>1</sup>, 尹婉琳<sup>1</sup>, 李欣倍<sup>1</sup>, 姚珊<sup>1</sup>, 高灏悦<sup>3</sup>, 邓毅<sup>4</sup>, 伍怡颖<sup>1,2\*</sup>, 曼琼<sup>1,2\*</sup>

1. 成都医学院药学院, 四川 成都 610500

2. 结构特异性小分子药物研究四川省高等学校重点实验室, 四川 成都 610500

3. 成都医学院护理学院, 四川 成都 610500

4. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730101

**摘要:** **目的** 基于蛋白质组学探讨甘草次酸和甘草酸缓解顺铂诱导的急性肝损伤 (acute liver injury, ALI) 的作用及潜在分子机制。**方法** 50 只 SPF 级雄性 Wistar 大鼠随机分为对照组、模型组、氨磷汀 (200 mg/kg) 组、甘草次酸 (100 mg/kg) 组和甘草酸 (200 mg/kg) 组, 甘草次酸组和甘草酸组连续 ig 给药 8 d, 氨磷汀组于实验第 5~8 天 ip 给药, 对照组和模型组 ig 生理盐水。实验第 5 天, 除对照组外, 其余大鼠单次 ip 顺铂溶液 (8 mg/kg) 诱导 ALI。检测肝脏指数、肝功能及肝组织病理变化; 采用 Label free 非标定量蛋白质组学技术分析肝组织蛋白表达, 筛选差异表达蛋白, 进行生物信息学分析。整合网络药理学方法构建药物和疾病预测交集靶点和差异表达蛋白的蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 整合网络, 采用 cytoNCA、MCODE、cytoHubba 方法筛选核心靶点, 进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 采用 Western blotting、免疫组化等技术验证关键靶点表达。**结果** 与模型组比较, 甘草次酸组和甘草酸组大鼠肝脏指数和血清中丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 活性显著降低 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), 肝组织病理损伤明显改善。蛋白质组学鉴定筛选到甘草次酸和甘草酸干预顺铂诱导的 ALI 潜在关键差异表达蛋白各 23 个, 富集到多个氧化还原反应、炎症和凋亡相关生物学过程。PPI 整合网络显示, 信号转导与转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、血红素氧合酶 1 (heme oxygenase 1, HMOX1)、蛋白激酶 B1 (protein kinase B1, AKT1)、B 细胞淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-aspartate protease-3, Caspase-3)、肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, TP53) 是甘草次酸作用网络的关键靶点, HMOX1、Bcl-2、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、TP53 是甘草酸作用网络的关键靶点, 并均可富集到磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-Akt 信号通路、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 信号通路、白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17) 信号通路、p53 信号通路等。验证结果显示, 甘草次酸和甘草酸均能显著上调 ALI 大鼠肝组织 p-Akt/Akt 值和 Bcl-2、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 水平 ( $P < 0.01, 0.001$ ), 下调 Akt、HMOX1、STAT3、高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1) 表达和 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ )。**结论** 甘草次酸和甘草酸均能有效缓解顺铂诱导的 ALI, 其保护作用可能与调控 Akt/STAT3/HMOX1 信号轴, 进而抑制肝脏氧化损伤、细胞凋亡及炎症反应密切相关。

**关键词:** 急性肝损伤; 顺铂; 甘草次酸; 甘草酸; 蛋白质组学; Akt/STAT3/HMOX1 通路

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)11-4224-14

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.11.013

## Mechanism of glycyrrhetic acid and glycyrrhizic acid in ameliorating cisplatin-induced acute liver injury based on proteomics

TANG Shanshan<sup>1</sup>, ZHANG Jian<sup>1</sup>, YANG Jian<sup>1</sup>, YIN Wanlin<sup>1</sup>, LI Xinbei<sup>1</sup>, YAO Shan<sup>1</sup>, GAO Haoyue<sup>3</sup>, DENG Yi<sup>4</sup>, WU Yiyi<sup>1,2</sup>, MAN Qiong<sup>1,2</sup>

收稿日期: 2025-10-31

基金项目: 四川省科技计划项目苗子工程项目 (2021JDRC0156); 四川省大学生创新创业训练计划项目 (S202413705077); 国家中医药中药制剂学实验室项目 (23LHZJ02); 发育与再生四川省重点实验室开放课题 (23LHZY05)

作者简介: 唐山珊, 硕士研究生, 从事中医药预防肝纤维化的研究。E-mail: 1442015272@qq.com

\*通信作者: 伍怡颖, 博士, 副教授, 从事天然产物抗肿瘤活性评价研究。E-mail: wuyiyi@cmc.edu.cn

曼琼, 博士, 讲师, 从事中药及复方临床应用基础研究。E-mail: gretam@163.com

1. School of Pharmaceutical Sciences, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China
2. Key Laboratory of Structure-Specific Small Molecule Drug Research for Universities in Sichuan Province, Chengdu 610500, China
3. School of Nursing, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China
4. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730101, China

**Abstract: Objective** To investigate the effects and underlying molecular mechanisms of glycyrrhetic acid (GLG) and glycyrrhizic acid (GLA) on alleviation of cisplatin (CP)-induced acute liver injury (ALI) based on proteomics. **Methods** A total of 50 SPF male Wistar rats were randomly divided into control group, model group, amifostine (200 mg/kg) group, GLG (100 mg/kg) group and GLA (200 mg/kg) group. Rats in GLG group and GLA group were given intragastric administration for eight consecutive days. Rats in amifostine group was given intraperitoneal administration from the 5th to the 8th day of the experiment, control group and model group were given intragastric administration of physiological saline. On the 5th day of the experiment, except for the control group, all other rats were induced to ALI with a single dose of cisplatin solution (8 mg/kg) via ip. Liver index, liver function and pathological changes in liver tissue were detected. Label free non-standard quantitative proteomics technology was used to analyze protein expressions in liver tissue, differentially expressed proteins were screen, and bioinformatics analysis was performed. The protein-protein interaction (PPI) integration network of drug and disease prediction intersection targets and differentially expressed proteins was constructed by integrating network pharmacology methods. The core targets were screened by cytoNCA, MCODE and cytoHubba, gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed. Key target expressions were validated using Western blotting, immunohistochemistry and other techniques. **Results** Compared with model group, the liver index and activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in serum of rats in GLG group and GLA group were significantly reduced ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), and the pathological damage of liver tissue was significantly improved. Proteomic identification identified 23 potential key differentially expressed proteins each in cisplatin-induced ALI treated with GLG and GLA, enriched in multiple biological processes related to redox reactions, inflammation and apoptosis. PPI integrated network showed that signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), heme oxygenase 1 (HMOX1), protein kinase B1 (AKT1), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), cysteine aspartate protease-3 (Caspase-3) and tumor protein p53 (TP53) were key targets of GLG action network, HMOX1, Bcl-2, epidermal growth factor receptor (EGFR) and TP53 were key targets of GLA action network, and they can be enriched in phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt signaling pathway, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) signaling pathway, interleukin-17 (IL-17) signaling pathway, p53 signaling pathway, etc. The validation results showed that both GLG and GLA could significantly upregulate the p-Akt/Akt value and Bcl-2, superoxide dismutase (SOD) levels in liver tissue of ALI rats ( $P < 0.01, 0.001$ ), and downregulate the expressions of Akt, HMOX1, STAT3, high mobility group box 1 protein (HMGB1) and levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , malondialdehyde (MDA) in liver tissue ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ). **Conclusion** GLG and GLA could effectively alleviate cisplatin-induced ALI, and their protective effects may be closely related to regulating Akt/STAT3/HMOX1 signaling axis, thereby inhibiting liver oxidative damage, cell apoptosis and inflammatory response.

**Keywords:** acute liver injury; cisplatin; glycyrrhetic acid; glycyrrhizic acid; proteomics; Akt/STAT3/HMOX1 pathway

顺铂是临床广谱抗肿瘤药，但易导致肾、肝、胃肠道、耳等组织损伤，限制了其临床应用<sup>[1-2]</sup>。顺铂在肝脏代谢时的蓄积直接损害肝细胞，引发氧化应激、细胞凋亡级联反应和炎症应答，诱导急性肝损伤（acute liver injury, ALI），临床表现为肝细胞坏死、炎症浸润和肝功能异常等<sup>[3-4]</sup>。目前常用水利尿、抗氧化剂或保肝药物防治顺铂诱导的 ALI，但尚无特效的解毒或保护剂<sup>[5]</sup>。甘草为中医传统解毒保肝要药，善补益，能入中焦健脾以养肝，并具有显著的解毒作用。甘草次酸和甘草酸是甘草主要活性成分，二者之间存在明确的“前体-活性代谢产

物”关联，即甘草酸口服后在体内经水解后转化为甘草次酸，吸收入血发挥药理作用<sup>[6]</sup>。大量研究证实，甘草酸和甘草次酸均具有多靶点保肝作用<sup>[7]</sup>。甘草次酸通过抑制肿瘤坏死因子- $\alpha$ （tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ）、核因子- $\kappa$ B（nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B）等炎症通路，或调控 Toll 样受体 4（Toll-like receptor 4, TLR4）信号通路，缓解药物性肝损伤<sup>[8-9]</sup>。甘草酸抑制 p53 介导的细胞凋亡，或通过调节炎症反应，缓解化学性肝损伤<sup>[10-11]</sup>。然而，二者对顺铂诱导的 ALI 是否具有保护作用，尤其是其作用机制是否存在异同，目前尚缺乏系统性的平行比

较研究。因此,本研究建立顺铂诱导的ALI大鼠模型,评价甘草次酸和甘草酸缓解顺铂诱导ALI的作用,采用Label-free定量蛋白质组学技术,结合生物信息学整合分析,系统阐明二者作用的关键分子网络与潜在机制,为甘草次酸和甘草酸临床治疗顺铂诱导的ALI提供理论依据,为中药机制探讨提供研究思路。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF级雄性Wistar大鼠,体质量180~220 g,购自成都达硕实验动物有限公司,生产合格证号SYXK(川)2020-196。动物饲养于成都医学院动物房,许可证号SCXK(川)2020-0030,环境温度为(25±1)℃,相对湿度为(60±5)%,12 h/12 h昼夜循环。动物实验经成都医学院动物伦理委员会批准(批准号2025-19),动物处理程序均遵循《实验动物管理和使用指南》。

### 1.2 药品与试剂

顺铂(批号109E021)购自北京索莱宝科技有限公司;注射用氨磷汀(国药准字H20040412,批号S30O11P129138)购自南京绿叶思科药业有限公司;甘草次酸(批号110723-201715,质量分数≥98%)、甘草酸(批号110731-201720,质量分数≥94%)购自中国食品药品检定研究院;生理盐水(批号1612193201)购自石家庄四药有限公司;无水乙醇(批号20190325)购自天津市大茂化学试剂厂;戊巴比妥钠(批号P11011)购自德国Merck公司;大鼠B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)ELISA试剂盒(批号E-EL-315c)、TNF-α ELISA试剂盒(批号E-EL-R2856c)、白细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)ELISA试剂盒(批号E-ELR0012c)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;大鼠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)ELISA试剂盒(批号20181224)购自北京索莱宝生物科技有限公司;大鼠丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(批号A003-1)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)试剂盒(批号20201104)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒(批号20201105)购自南京建成生物工程研究所;血红素氧合酶1(heme oxygenase 1, HMOX1)抗体(批号10701-1-AP)、高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)抗体(批号10829-1-

AP)、p53抗体(批号60284-2-Ig)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cystein-aspartate protease-3, Caspase-3)抗体(批号10495-1-AP)购自武汉三鹰生物技术有限公司;信号转导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)抗体(批号5106)购自南京赛戈巍生物科技有限公司;蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)、p-Akt抗体(批号分别为9272S、4060S)购自美国CST公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号Bs-41373R)购自北京博奥森生物技术有限公司。

### 1.3 仪器

5430R型低温高速离心机(德国Eppendorf公司);R-210型旋转蒸发仪(瑞士Buchi公司);KQ-500DE型数控超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);Nano-Elute高效液相色谱仪、串联CaptiveSpray纳米电喷雾离子源混合TIMS四级杆TimsTOF Pro飞行时间质谱仪(德国Bruker公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组、造模与给药

大鼠适应性饲养1周后,随机分为对照组、模型组、氨磷汀(200 mg/kg)组、甘草次酸(100 mg/kg)组和甘草酸(200 mg/kg)组,每组10只。甘草次酸组和甘草酸组给药剂量参照文献<sup>[12-13]</sup>并基于预实验确定,甘草次酸和甘草酸分别溶解于二甲基亚砜中,用反渗透水稀释至10、20 mg/mL,甘草次酸组和甘草酸组连续ig相应溶液8 d;注射用氨磷汀溶于生理盐水中,配制成质量浓度为20 mg/mL的溶液,氨磷汀组于实验第5~8天ip氨磷汀溶液<sup>[14]</sup>;对照组和模型组ig生理盐水(10 mL/kg)。实验第5天,除对照组外,其余组大鼠单次ip顺铂溶液(8 mg/kg)诱导ALI。

### 2.2 肝功能检测

实验第8天给药结束后,大鼠禁食不禁水24 h,ip 3%戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉采血,4℃、3 500 r/min离心5 min,分离血清,采用全自动生化仪测定血清中AST和ALT的活性。

### 2.3 肝脏指数的测定

取肝组织,称定肝脏质量,计算肝脏指数。

肝脏指数=肝质量/体质量

### 2.4 苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察肝组织病理变化

取左叶肝组织,用4%多聚甲醛固定48 h,经

梯度乙醇脱水、透明、石蜡包埋后切片,进行 HE 染色,于显微镜下观察并拍照。

## 2.5 蛋白组学分析

取 0.1 g 肝组织,加入裂解液提取蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度。消化蛋白,加入 5 mmol/L DTT, 56 °C 孵育 30 min; 加入 20 mmol/L 碘乙酰胺,室温避光孵育 1 h; 加入 5 mmol/L DTT, 将样品上样至相对分子质量为  $1 \times 10^4$  的 Microcon 过滤膜, 12 000 × g 离心 20 min, 洗涤 2 次, 按胰蛋白酶-蛋白质 1:25 的质量比加入胰蛋白酶, 37 °C 消化, 离心取上清, 干燥备用。

将 Nano-Elute 液相色谱系统与 TimsTOF Pro 四级杆飞行时间质谱仪联用进行分析。使用自制 C<sub>18</sub> 反相色谱柱 (250 mm × 150 μm, 2.6 μm) 进行液相色谱分离, 流动相为含 0.1% 甲酸水溶液 (A) - 含 0.1% 甲酸的乙腈溶液 (B), 梯度洗脱: 0~30 min, 3%~15% B; 30~70 min, 15%~24% B; 70~100 min, 24%~35% B; 100~102 min, 35%~95% B; 102~112 min, 95% B; 112~120 min, 95%~5% B。柱温 60 °C; 体积流量 600 nL/min; 进样量为 10 μL。采用 CaptiveSpray 纳米电喷雾离子源, PASEF 模式采集质谱数据, 每个 topN 采集周期进行 5 次扫描。四级杆的隔离宽度分别为 2 Th (质荷比 < 700) 和 3 Th (质荷比 > 700)。采用 MaxQuant 中的 Andromeda 引擎搜索原始文件, 将 NCBI 大鼠蛋白数据库作为正库进行搜索。软件自动生成用于诱饵搜索的反向数据库。非标定量 (LFQ) 算法对质谱的一级信号进行定量, 蛋白质的强度使用 iBAQ (基于一级峰面积的蛋白强度定量) 表示。差异表达蛋白筛选阈值设定为差异倍数 (fold change, FC) ≥ 1.5 或 ≤ 0.67 且  $P < 0.05$ 。使用 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov>) 数据库进行基因本体 (gene ontology, GO) 注释分析, 利用统计学软件进行 K 均值聚类分析。

## 2.6 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 整合网络构建和核心基因的筛选

通过 Swiss 数据库 (<http://swisstargetprediction.ch/>, Probability > 0)、PharmMapper 数据库 (<https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>, Z score > 0.3) 和 TCMIP 数据库 (<http://www.tcmip.cn/TCMIP/>, TCMIP > 0.6) 收集甘草次酸和甘草酸的药物靶点。通过 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 输入 “cisplatin induced ALI” 收集顺铂诱导的 ALI 疾病靶点。分别将甘草次酸和甘草酸差异表达蛋

白、预测药物靶点和疾病靶点进行 Venn 分析, 通过 String 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 构建交集靶点的 PPI 网络, Cytoscape 3.10.1 软件进行可视化处理。并通过 cytoNCA、MCODE、cytoHubba 3 种插件分别筛选甘草次酸和甘草酸缓解顺铂诱导的 ALI 网络的核心靶点。

## 2.7 通路富集和相关性分析

通过 DAVID 数据库对差异表达蛋白和交集靶点进行 GO 功能及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。

## 2.8 Western blotting 检测肝组织 Akt、p-Akt、HMOX1 和 STAT3 蛋白表达

取肝组织, 加入 RIPA 裂解液, 冰浴超声破碎至组织完全裂解, 4 °C、15 000 r/min 离心 20 min, 取上清, BCA 法测定蛋白浓度, 于 -80 °C 保存备用。蛋白样品经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 加入 5% 脱脂牛奶于室温封闭 2 h, 分别加入一抗 (1:1 000), 4 °C 孵育过夜; TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 加入 HRP 标记的二抗 (1:10 000), 室温孵育 2 h; TBST 洗膜后, 加入 ECL 化学发光试剂显影, 采用 Image J 软件分析条带灰度值。

## 2.9 免疫组化检测肝组织 HMGB1、Caspase-3 和 p53 表达

取肝组织石蜡切片, 脱蜡和水化后, 将切片置于柠檬酸钠缓冲液中, 加热修复抗原, 牛血清白蛋白阻断非特异性信号。滴加一抗, 4 °C 孵育过夜; 滴加二抗, 室温孵育 1 h。DAB 显色, 用载玻片中性树脂封片, 于显微镜下观察并拍照, 采用 Image J 软件分析图像。

## 2.10 ELISA 检测肝组织中 Bcl-2、TNF-α 和 IL-1β 水平

取肝组织, 匀浆后采用 ELISA 试剂盒说明书测定 Bcl-2、TNF-α 和 IL-1β 水平。

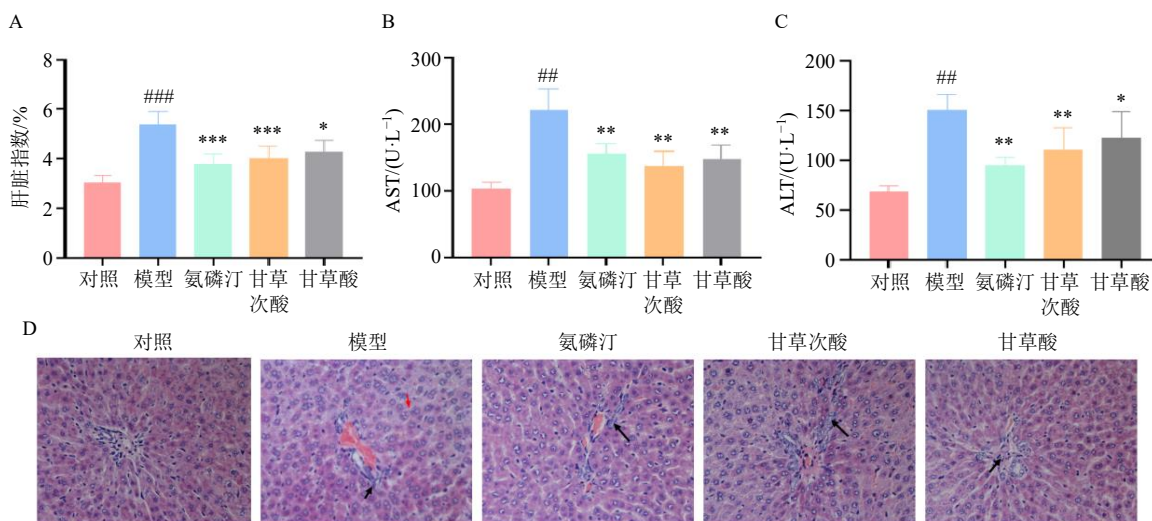
## 2.11 统计学分析

使用 GraphPad Prism 9 软件进行统计分析, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组比较采用单因素方差分析。

## 3 结果

### 3.1 甘草次酸和甘草酸对顺铂诱导的 ALI 大鼠肝功能和肝组织病理变化的影响

如图 1-A~C 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肝脏指数及血清中 AST、ALT 活性均显著升高



D 图中红色箭头表示坏死细胞, 黑色箭头表示炎症浸润; 与对照组比较: ### $P < 0.01$  #### $P < 0.001$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ , 下同。

Red arrow in figure D represents necrotic cells, while the black arrow represents inflammatory infiltration; ### $P < 0.01$  #### $P < 0.001$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group, same as below figures.

图 1 甘草次酸和甘草酸对顺铂诱导的 ALI 大鼠肝脏指数 (A) 及肝功能 (B、C) 和肝组织病理变化 (D,  $\times 200$ ) 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 1 Effects of glycyrrhetic acid and glycyrrhizic acid on liver index (A), liver function (B, C) and pathological changes of liver tissue (D,  $\times 200$ ) in cisplatin-induced ALI rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

( $P < 0.01, 0.001$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠肝脏指数及血清中 AST、ALT 活性显著降低 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ )。HE 染色结果 (图 1-D) 显示, 对照组大鼠肝组织染色均匀, 细胞形态和结构完整; 模型组大鼠肝细胞气球样变性并伴有坏死细胞, 炎症浸润明显; 各给药组大鼠肝组织损伤程度明显减轻, 结构排列较规整, 无明显紊乱。

### 3.2 蛋白组学分析结果

通过高通量蛋白组学分析, 共鉴定出肝组织中 4 343 个蛋白质。如图 2 所示, 对照组和模型组筛选到差异表达蛋白 179 个, 其中模型组上调 120 个, 下调 59 个。甘草次酸组和模型组筛选到差异表达

蛋白 56 个, 其中甘草次酸组上调 27 个, 下调 29 个。甘草酸组和模型组筛选到差异表达蛋白 72 个, 其中甘草酸组上调 47 个, 下调 25 个。

差异表达蛋白的 GO 功能富集结果 (图 3) 显示, 模型组上调、甘草次酸组和甘草酸组下调的差异表达蛋白均可富集到对缺氧的反应、过氧化氢应答及死亡域受体介导的外源性凋亡信号通路负调控等相关生物学过程。此外, 模型组下调、甘草次酸组和甘草酸组上调的差异表达蛋白均可富集到与蛋白质稳态维持及内质网应激缓解相关的生物学过程。提示甘草次酸和甘草酸调控的差异表达蛋白参与多个氧化还原反应和凋亡生物学过程。

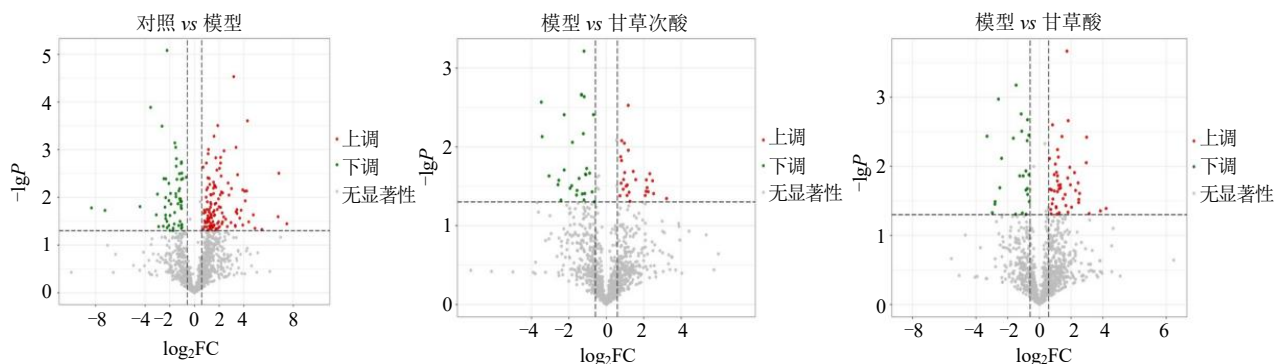


图 2 各组大鼠肝组织差异表达蛋白的火山图

Fig. 2 Volcano plots of differentially expressed proteins in liver tissue of rats in each group

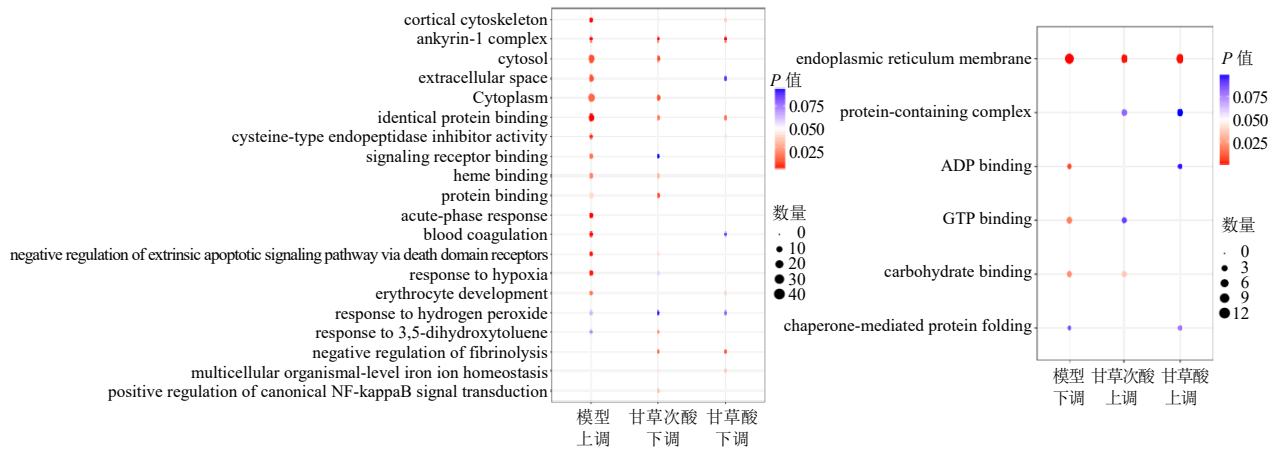


图3 甘草次酸和甘草酸改善顺铂诱导的ALI的差异表达蛋白GO功能富集分析

Fig. 3 GO functional enrichment analysis of differentially expressed proteins improved by glycyrrhetic acid and glycyrrhizic acid in cisplatin-induced ALI

选择对照组 vs 模型组与模型组 vs 甘草次酸组、模型组 vs 甘草酸组表达趋势相反的差异表达蛋白作为甘草次酸或甘草酸缓解顺铂诱导的ALI的潜在关键差异表达蛋白，共筛选到甘草次酸改善顺铂诱

导的ALI的差异表达蛋白23个(表1)，其中上调7个，下调16个。筛选到甘草酸改善顺铂诱导的ALI的差异表达蛋白23个(表2)，其中上调11个，下调12个。

表1 甘草次酸改善顺铂诱导的ALI潜在关键差异表达蛋白

Table 1 Potential key differential proteins improved by glycyrrhetic acid in cisplatin-induced ALI

序号	蛋白	log <sub>2</sub> FC		趋势	
		对照组vs模型组	模型组vs甘草次酸组	对照组vs模型组	模型组vs甘草酸组
1	Afm	-1.22	0.73	↓##	↑*
2	Ank1	2.11	-1.12	↑##	↓*
3	Arl1	0.80	-1.05	↑#	↓*
4	Car1	1.61	-0.76	↑##	↓*
5	Cdipt	-1.01	0.77	↓#	↑*
6	Clec4f	-2.63	1.57	↓###	↑*
7	Cyp4a3	2.03	-1.23	↑##	↓**
8	Ddx21	1.23	-1.29	↑#	↓*
9	Fgg	1.30	-0.64	↑##	↓*
10	Fkbp4	-1.61	0.79	↓#	↑*
11	Gypa	6.83	-3.43	↑##	↓**
12	Hmox1	2.16	-2.25	↑##	↓**
13	Impdh2	1.52	-1.46	↑#	↓*
14	Kng1	4.29	-1.33	↑###	↓**
15	LOC103690024	-1.02	0.98	↓#	↑*
16	LOC297568	-1.52	0.96	↓###	↑**
17	Myl6l	1.13	-0.69	↑###	↓**
18	Rbm3	6.77	-2.43	↑#	↓*
19	Serpina3c	-2.22	1.17	↓###	↑**
20	Slc25a25	1.22	-1.20	↑#	↓*
21	Slc4a1	1.89	-1.18	↑###	↓**
22	Spryd4	3.44	-3.06	↑#	↓*
23	Stat3	3.18	-1.19	↑###	↓***

↑表示上调，↓表示下调；与对照组比较：#P<0.05 ##P<0.01 ###P<0.001；与模型组比较：\*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001，表2同。

↑ indicates upregulated, ↓ indicates downregulated; #P<0.05 ##P<0.01 ###P<0.001 vs control group; \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001 vs model group, same as table 2.

表 2 甘草酸改善顺铂诱导的 ALI 潜在关键差异表达蛋白

Table 2 Potential key differential proteins improved by glycyrrhizic acid in cisplatin-induced ALI

序号	蛋白	log <sub>2</sub> FC		趋势	
		对照组vs模型组	模型组vs甘草酸组	对照组vs模型组	模型组vs甘草酸组
1	Ank1	2.11	-1.02	↑##	↓*
2	Car1	1.61	-0.85	↑##	↓*
3	Chordc1	-1.13	1.01	↓#	↑**
4	Col6a2	-3.00	3.14	↓##	↑*
5	Crot	2.09	-3.30	↑##	↓**
6	Ero1b	-1.94	1.62	↓#	↑*
7	Fads1	-7.24	4.21	↓#	↑*
8	Fetub	1.58	-0.67	↑##	↓**
9	Fkbp4	-1.61	1.20	↓##	↑**
10	Gypa	6.83	-2.50	↑#	↓*
11	Hmox1	2.16	-1.64	↑##	↓**
12	Hnf1a	1.53	-0.77	↑##	↓**
13	Hsd17b2	-2.22	1.50	↓#	↑*
14	Kng1	4.29	-0.63	↑#	↓*
15	L3hypdh	-1.72	1.14	↓#	↑*
16	Lyz2	1.24	-0.85	↑#	↓*
17	Myef2	2.03	-1.50	↑#	↓*
18	Myl6l	1.13	-0.66	↑#	↓*
19	RGD1563861	-2.39	2.48	↓#	↑*
20	Rsu1	-1.28	1.79	↓#	↑*
21	Serpina3c	-2.22	0.77	↓#	↑**
22	Slc4a1	1.89	-1.47	↑###	↓***
23	Vamp7	-2.07	1.67	↓#	↑*

3.3 PPI 整合网络分析和核心蛋白筛选

为了进一步探究作用机制，分别将甘草次酸和甘草酸预测靶点、差异表达蛋白和顺铂诱导的 ALI 疾病靶点进行分子互作整合分析。数据库收集得到甘草次酸靶点 394 个，甘草酸靶点 408 个，与顺铂诱导的 ALI 疾病靶点取交集，分别得到 130、106 个交集靶点。分别与对应差异表达蛋白构建 PPI 整合

网络，网络中节点大小与度值呈正比，预测靶点越靠近中心，互作得分越高。如图 4 所示，甘草次酸 PPI 整合网络中，STAT3 和 HMOX1 为甘草次酸、疾病和差异表达蛋白的共有蛋白。排名前 10 位的核心靶点包括 AKT1、BCL2、CASP3、STAT3、肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, TP53) 等，提示这些蛋白可能是甘草次酸缓解顺铂诱导的 ALI 的关键蛋白。

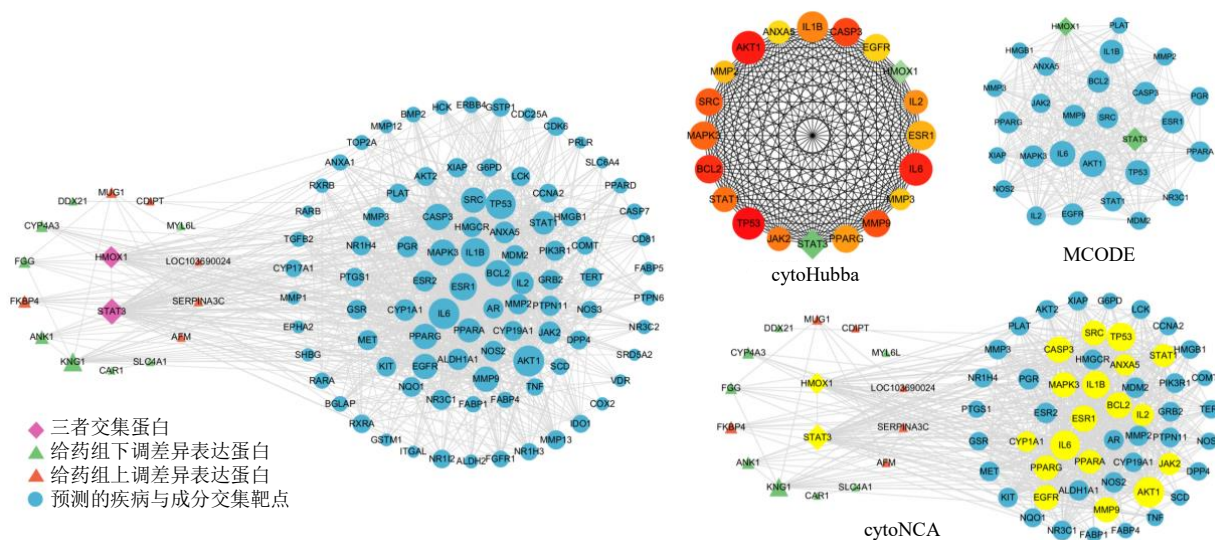


图 4 甘草次酸缓解顺铂诱导的 ALI 的 PPI 整合网络

Fig. 4 PPI network of glycyrrhetic acid in alleviating cisplatin-induced ALI

如图 5 所示，甘草酸缓解顺铂诱导的 ALI 的 PPI 整合网络中，HMOX1 为甘草酸、疾病和差异表达蛋白的共有蛋白。排名前 10 位的核心靶点包括 BCL2、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1)、TP53 等，提示这些蛋白可能是甘草酸改善顺铂诱导的 ALI 的关键蛋白。

### 3.4 整合网络蛋白通路富集分析

分别对甘草次酸和甘草酸的 PPI 整合网络相关蛋白进行 KEGG 通路富集分析，如图 6 所示，甘草次酸相关蛋白富集到磷脂酰肌醇 3- 激酶

(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) -Akt 信号通路、TNF 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路、IL-17 信号通路、缺氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1) 信号通路、细胞凋亡等；甘草酸相关蛋白富集到 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、凋亡、HIF-1 信号传导通路、IL-17 信号传导通路、TNF 信号通路、p53 信号通路等。结果富集到多条与炎症反应和细胞凋亡相关通路，提示甘草次酸和甘草酸可能通过调控相关蛋白，参与上述通路发挥改善顺铂诱导的 ALI 作用。

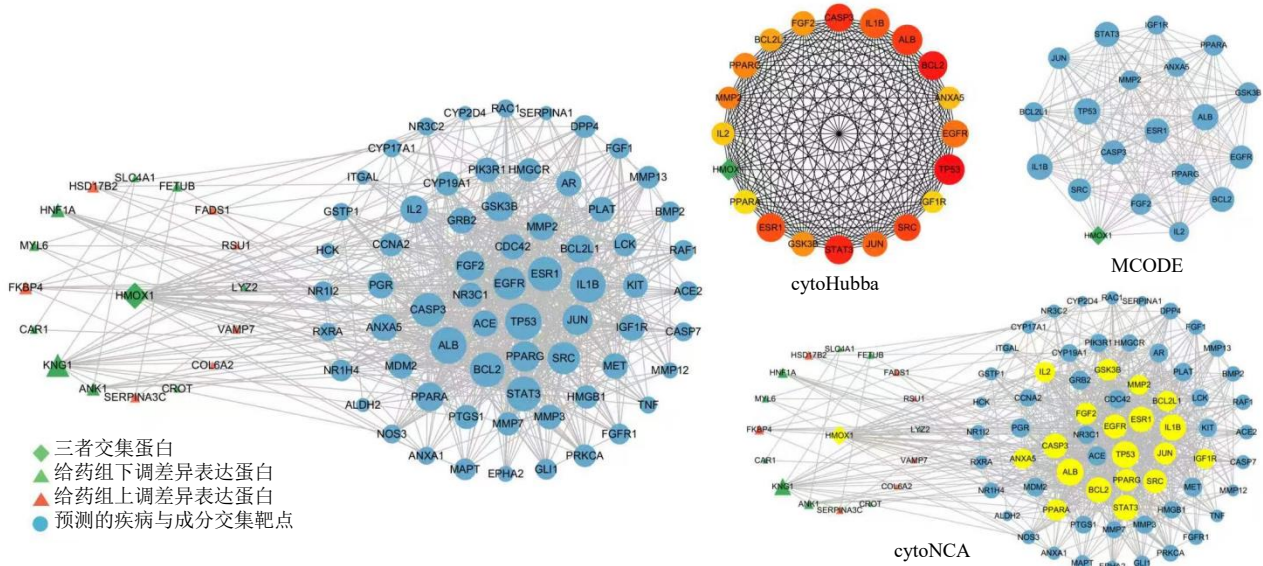


图 5 甘草酸缓解顺铂诱导的 ALI 的 PPI 整合网络

Fig. 5 PPI network of glycyrrhizic acid in alleviating cisplatin-induced ALI

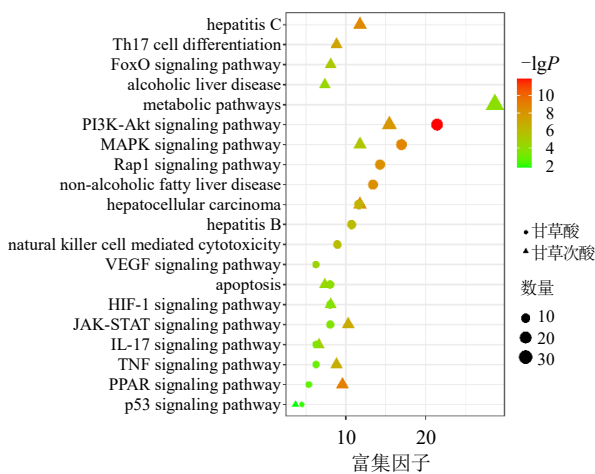


图 6 甘草次酸和甘草酸缓解顺铂诱导的 ALI 相关蛋白的 KEGG 通路富集分析

Fig. 6 KEGG pathway enrichment analysis of cisplatin-induced ALI-associated proteins modulated by glycyrrhetic acid and glycyrrhizic acid

### 3.5 关键候选蛋白表达的验证

基于整合分析和文献调研，预测甘草次酸和甘草酸缓解顺铂诱导的 ALI 的作用机制可能与二者调控 Akt/STAT3/HMOX1 通路相关蛋白表达，抑制顺铂诱导的肝组织氧化损伤、细胞凋亡和炎症反应密切相关，采用 Western blotting、免疫组化等方法检测大鼠肝脏中 Akt/STAT3/HMOX1 通路关键候选蛋白表达。如图 7 所示，与对照组比较，模型组大鼠肝组织 Akt、HMOX1 和 STAT3 的蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.001$ )，p-Akt/Akt 值显著降低 ( $P < 0.001$ )；与模型组比较，甘草次酸组和甘草酸组大鼠肝组织 Akt、HMOX1 和 STAT3 的蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.001$ )，p-Akt/Akt 值显著升高 ( $P < 0.001$ )，与蛋白质组结果一致。

免疫组化结果 (图 8) 显示，与对照组比较，模型组大鼠肝组织细胞质中的 HMGB1 表达显著增

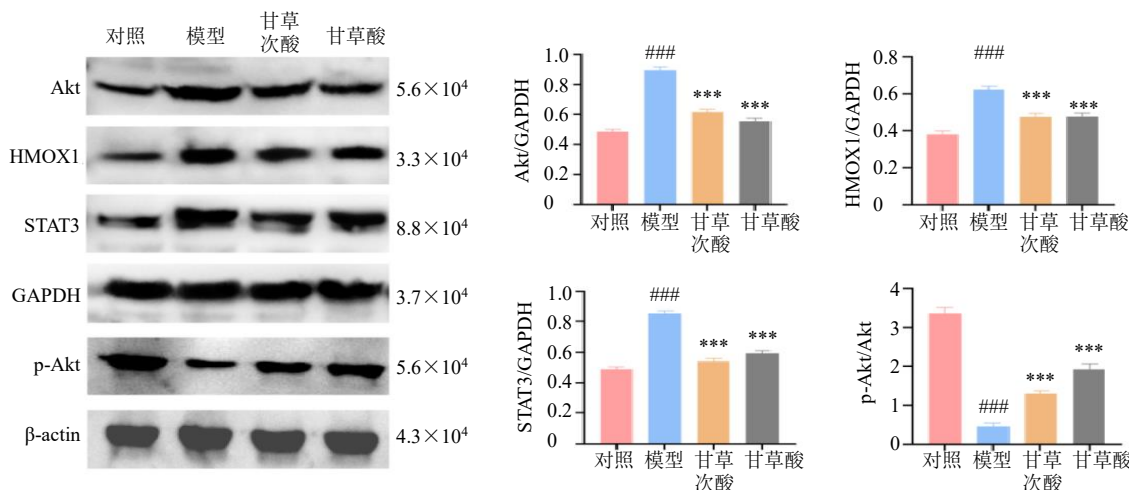


图7 甘草次酸和甘草酸对顺铂诱导的ALI大鼠肝组织Akt/STAT3/HMOX1通路关键蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 7 Effects of glycyrrhetinic acid and glycyrrhizic acid on key protein expressions of Akt/STAT3/HMOX1 pathway in liver tissue of cisplatin-induced ALI rats ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

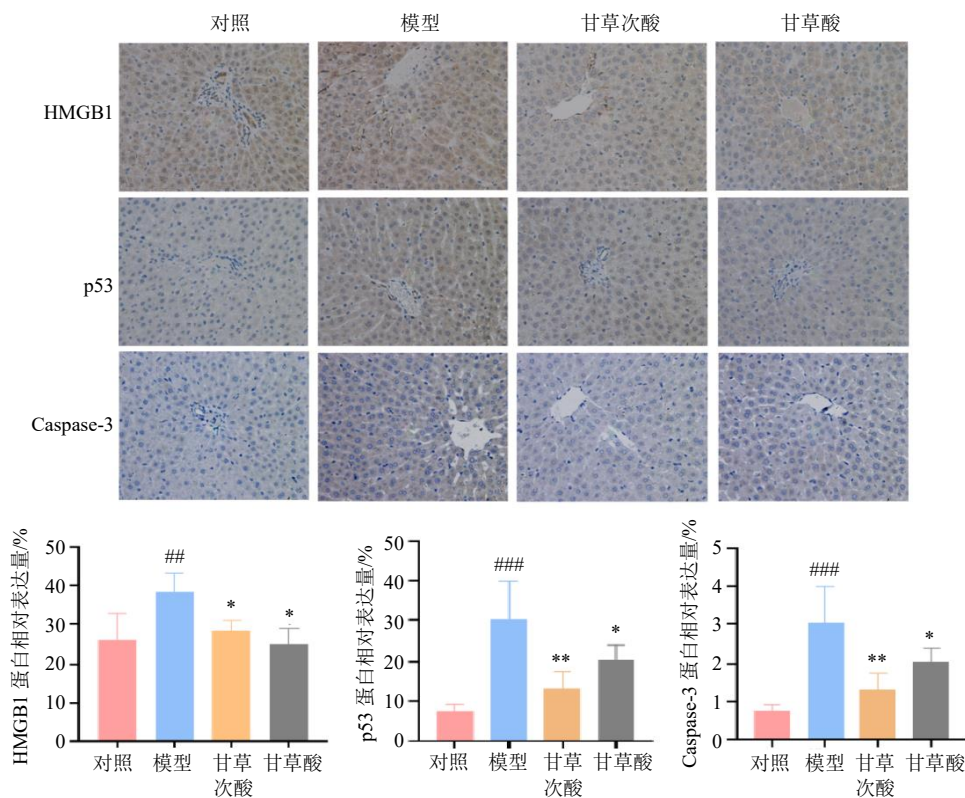


图8 甘草次酸和甘草酸对顺铂诱导的ALI大鼠肝组织HMGB1、p53和Caspase-3蛋白表达的影响 ( $\times 200; \bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 8 Effects of glycyrrhetinic acid and glycyrrhizic acid on expressions of HMGB1, p53 and Caspase-3 proteins in liver tissue of cisplatin-induced ALI rats ( $\times 200; \bar{x} \pm s, n = 3$ )

加 ( $P < 0.01$ ), 胞质转移现象明显; 细胞核中的 p53 和细胞质中的 Caspase-3 表达显著增加 ( $P < 0.01$ )。给予甘草次酸和甘草酸干预后, 大鼠肝组织 HMGB1 胞质转移现象显著改善 ( $P < 0.05$ ), p53 和 Caspase-3 的阳性表达显著减少 ( $P < 0.05, 0.01$ )。

如图9所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肝组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 MDA 水平显著升高 ( $P < 0.01, 0.001$ ), Bcl-2 水平和 SOD 活力显著降低 ( $P < 0.01, 0.001$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠肝组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 MDA 水平显著降低 ( $P < 0.01, 0.001$ ),

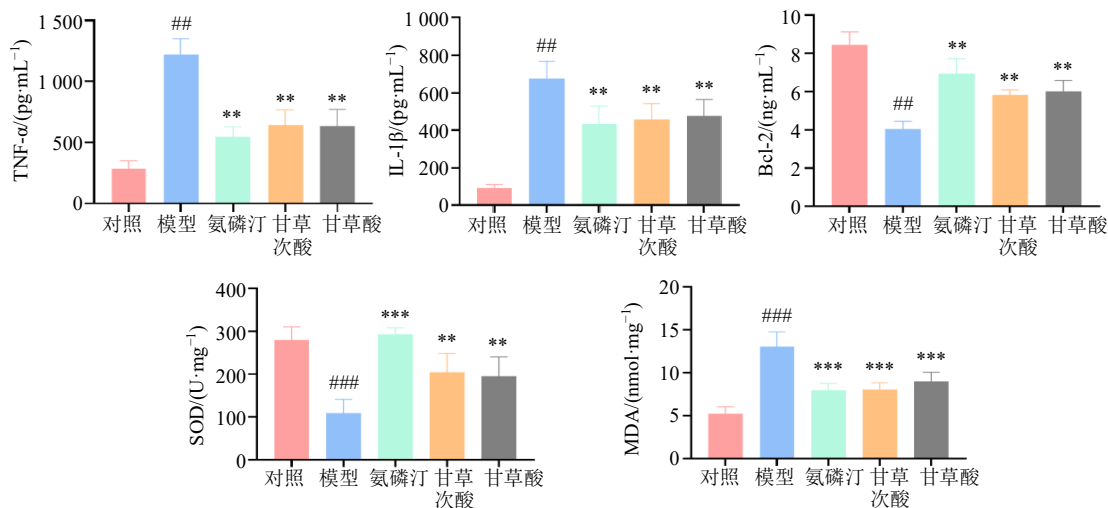


图9 甘草次酸和甘草酸对顺铂诱导的ALI大鼠肝组织中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、Bcl-2、SOD和MDA水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )  
 Fig. 9 Effects of glycyrrhetic acid and glycyrrhizic acid on levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , Bcl-2, SOD and MDA in liver tissue of cisplatin-induced ALI rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Bcl-2水平和SOD活力显著升高( $P < 0.01, 0.001$ ),提示甘草次酸和甘草酸可减轻顺铂诱导的ALI大鼠氧化损伤,抑制炎症反应和细胞凋亡。

#### 4 讨论

顺铂诱导的ALI是其常见的剂量相关性毒性,临床表现主要为突发性肝功能异常、肝细胞坏死以及炎症发生等<sup>[15-16]</sup>。甘草次酸和甘草酸是甘草的主要活性物质之一,二者构成了明确的“前体药物-活性代谢物”关系,对药物诱导的肝损伤均具有保护作用,能够通过抗炎、抗氧化、抗凋亡和稳定细胞膜等机制发挥保肝作用<sup>[17-18]</sup>。但二者作用和作用机制网络的平行比较研究尚未见报道。本研究在实验第5天ip顺铂诱导ALI大鼠模型,提前给予甘草次酸和甘草酸进行预防性干预,与临床很多肿瘤化疗药肝损伤的计划性治疗模式一致,对甘草次酸和甘草酸辅助性预防保肝具有临床转化价值<sup>[19]</sup>。氨磷汀是一种广谱的细胞保护剂,临床前及临床研究均已证实其可清除自由基、促进DNA修复,有效减轻顺铂在内的多种化疗药物引起的正常组织毒性<sup>[20-21]</sup>,常被作为评价肝保护药物效果的阳性对照药物<sup>[22]</sup>。参照顺铂化疗肝保护临床用药方案,于实验第5~8天给予氨磷汀溶液,确保了其作为阳性对照的临床相关性和可比性<sup>[23]</sup>。本研究选用ALT和AST作为血清肝损伤生化指标,二者是评价急性肝细胞损伤公认的金标准,并结合肝脏指数与组织病理学进行综合评估。未来研究可纳入碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶( $\gamma$ -

glutamyl transferase, GGT)等更全面的肝功能指标,以进一步细化对损伤类型与修复过程的评估。结果显示,甘草次酸和甘草酸能显著降低顺铂诱导的ALI大鼠肝脏指数和血清ALT、AST活性,肝组织病理学结果显示组织炎症和坏死现象有明显改善,提示甘草次酸和甘草酸对顺铂诱导的ALI大鼠有明显的保护作用。

整合蛋白组学结果显示,甘草次酸和甘草酸显著改变了ALI大鼠的肝脏蛋白质表型,二者整合网络蛋白均可富集到p53信号通路、PI3K-Akt信号通路、TNF信号通路、MAPK信号通路、IL-17信号通路、HIF-1信号通路、细胞凋亡等通路,提示甘草次酸和甘草酸调控的差异表达蛋白可能通过参与氧化应激、炎症反应和细胞凋亡的级联反应协同发挥干预作用。顺铂诱导的ALI正是多重机制协同作用的结果,顺铂进入肝组织后诱导肝细胞DNA损伤,激活p53途径,并直接损伤线粒体,诱导大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生,MDA升高并消耗谷胱甘肽(glutathione, GSH)、SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)等肝细胞抗氧化剂,诱导氧化应激反应<sup>[24-25]</sup>。p53激活后,调控Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、Bcl-2等促凋亡和抗凋亡蛋白表达,激活Caspase级联反应,导致肝细胞凋亡<sup>[26]</sup>。此外,肝细胞损伤后释放损伤相关的分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)如HMGB1、三磷酸腺苷等,激活免疫细胞释放TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、

IL-6 等炎症因子和趋化因子, 引发炎症反应, 并进一步释放 ROS, 形成恶性循环<sup>[27]</sup>。本研究最终筛选到甘草次酸和甘草酸缓解顺铂诱导的 ALI 的差异表达蛋白均 23 个, 其中, 甘草次酸可显著下调顺铂诱导的 ALI 大鼠肝组织 STAT3、HMOX1 表达, 甘草酸显著下调 HMOX1 表达。此外, 得到甘草次酸改善顺铂诱导的 ALI 的 PPI 整合网络核心靶点为 AKT1、Bcl-2、Caspase-3、STAT3、p53、HMOX1, 甘草酸改善顺铂诱导的 ALI 的 PPI 整合网络核心靶点为 Bcl-2、EGFR、ESR1、p53、HMOX1。通过整合分析和文献调研结果, 预测甘草次酸和甘草酸可能通过调控 Akt/STAT3/HMOX1 通路, 调节 p53、HMGB1、Bcl-2、Caspase-3、细胞色素 P450 家族 4 亚家族 A 成员 3 (cytochrome P450 family 4 subfamily A member 3, CYP4A3) 等蛋白, 抑制顺铂诱导的氧化应激、细胞凋亡和炎症反应, 发挥干预作用。

Akt 为顺铂诱导的 ALI 疾病靶点, 是 PI3K/Akt 通路的核心分子。其磷酸化激活促进抗凋亡蛋白 (如 Bcl-2) 的表达, 维持线粒体稳定, 减少 Caspase-9 和 Caspase-3 的激活, 调节细胞凋亡<sup>[28]</sup>。Akt 和 STAT3 双向调控, Akt 可间接磷酸化 STAT3, 而 STAT3 的激活又可上调 Akt 水平。STAT3 是应激响应与再生信号的关键转录因子, 广泛参与肝损伤的多种生理和病理过程<sup>[29]</sup>。通过激活 Bcl-xL 和 Bcl-2 等多个抗凋亡基因, 抑制肝细胞凋亡, 还可抑制促炎细胞因子的产生, 减轻炎症反应<sup>[30-31]</sup>。研究显示, 在乙醇诱导的肝损伤中, 抑制 STAT3 活性可减轻炎症反应, 保护肝脏<sup>[32]</sup>。此外, 激活的 STAT3 进入细胞核可直接结合到 HMOX1 的启动子区域, 驱动其转录和表达<sup>[33]</sup>。HMOX1 是一种应激诱导酶, 当机体出现氧化应激、炎症等刺激时, 表达会显著上调<sup>[34]</sup>。肝损伤早期, HMOX1 能催化血红素降解, 产生胆绿素、一氧化碳和亚铁离子, 清除 ROS, 减轻氧化应激对肝细胞的损伤<sup>[35]</sup>。但肝损伤后期, 其持续高表达则预示肝细胞铁死亡风险。目前已有研究将 HMOX1 作为药源性肝损伤的潜在血浆肝损伤标志物<sup>[36]</sup>。Western blotting 结果表明甘草次酸和甘草酸均可显著下调顺铂诱导的 ALI 大鼠肝组织 Akt、STAT3、HMOX1 表达, 并上调 p-Akt 表达, 与蛋白组结果一致。提示二者的干预作用可能与提高 Akt 磷酸化水平和抑制 Akt/STAT3/HMOX1 信号轴有关。

顺铂诱导的 ALI 导致 p53 和 Caspase-3 表达升

高, Bcl-2 表达降低, 细胞凋亡倾向增加, 加重肝细胞损伤<sup>[37]</sup>。本研究结果表明, 甘草次酸和甘草酸可下调顺铂诱导的 ALI 大鼠肝组织 p53 和 Caspase-3 表达, 升高 Bcl-2 水平, 发挥抗凋亡作用。MDA 是脂质过氧化反应的产物之一, 其含量可反映细胞内氧化应激水平和脂质过氧化程度<sup>[38]</sup>。SOD 能催化超氧阴离子, 减轻氧化应激<sup>[39]</sup>。给予甘草次酸和甘草酸后, 可逆转顺铂诱导的 ALI 大鼠肝脏 SOD 活性和 MDA 含量, 提示二者均可能缓解顺铂引起的肝细胞氧化应激损伤。此外, 大鼠肝脏蛋白组学结果显示, 甘草次酸还可以下调 CYP4A3 的表达, 顺铂可能通过诱导肝细胞 CYP4A3 的表达, 促进 ROS 的生成, 加重肝氧化应激损伤<sup>[40-41]</sup>。CYP4A3 还可以通过催化花生四烯酸、白三烯和前列腺素等代谢物的生成, 促进炎症细胞浸润<sup>[42]</sup>。肝细胞损伤后诱导释放 HMGB1, HMGB1 作为损伤因子和炎症介质, 激活 TNF、IL-17 等下游炎症信号通路, 引发炎症反应<sup>[43]</sup>。甘草次酸和甘草酸可下调顺铂诱导的 ALI 大鼠肝脏 HMGB1 表达和 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平, 提示二者可能通过抗炎缓解肝脏损伤。

本研究通过整合蛋白组、网络药理学及验证实验, 系统揭示了甘草次酸和甘草酸干预顺铂诱导的 ALI 的分子网络变化和作用机制 (图 10)。结果显示, 二者均可增强磷酸化 Akt 并上调 HMOX1。值得注意的是, 蛋白质组学分析显示 STAT3 仅为甘草次酸的差异表达蛋白, 提示甘草次酸可能对 STAT3 具有更直接的调控, 过程可能与 Akt 介导的 STAT3 磷酸化抑制、协同增强 HMOX1 的表达有关。相比之下, 甘草酸则可能通过更间接或上游的方式, 实现对 STAT3/HMOX1 通路的调节作用。如通过特异性调控其差异表达蛋白细胞外基质蛋白——VI 型胶原蛋白  $\alpha 2$  链 (collagen type VI alpha 2 chain, COL6A2), 经整合素信号转导间接调控 STAT3 等细胞内信号通路<sup>[44-46]</sup>。因此推测甘草酸可能通过调节细胞微环境网络化间接影响 STAT3 功能, 需未来加以验证。另外, 本研究主要基于蛋白质组学的相关性分析和关键分子的平行验证, 整合分析构建了 Akt/STAT3/HMOX1 核心网络, 并检测网络与下游氧化、凋亡及炎症指标的一致变化。但本研究未进行分子间的上下游调控关系及因果顺序验证, 未来将通过 siRNA 敲低或过表达 STAT3、HMOX1 等核心靶点, 并结合通路抑制剂, 进行信号通路调控或回复验证, 以最终阐明其确切的分子机制。

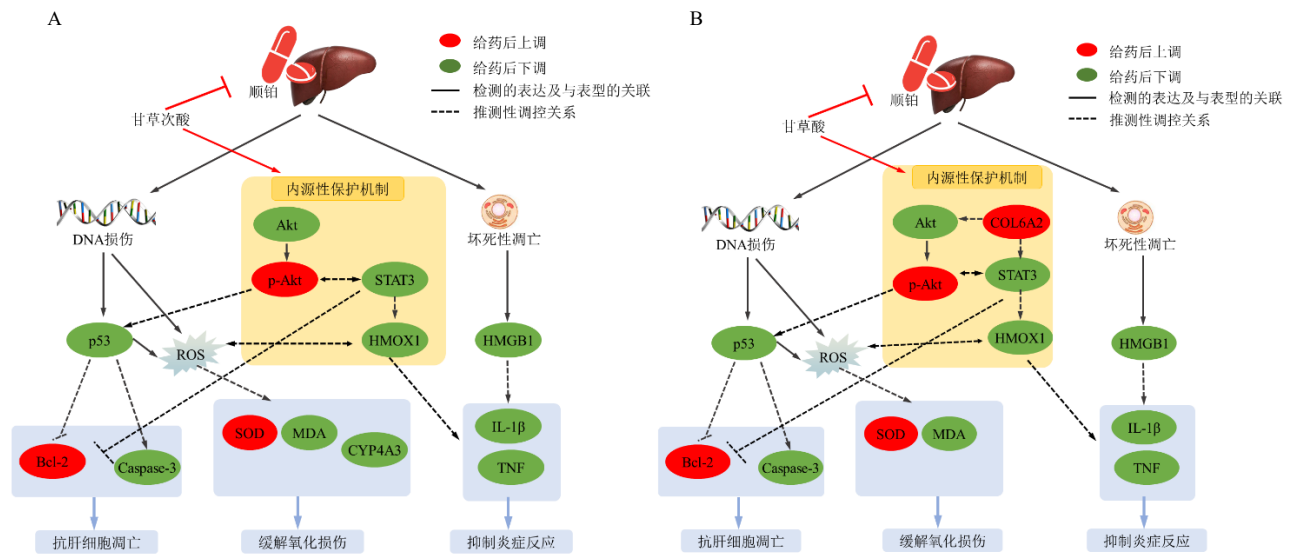


图 10 甘草次酸 (A) 和甘草酸 (B) 改善顺铂诱导的 ALI 的作用机制

Fig. 10 Mechanism of glycyrrhetic acid (A) and glycyrrhizic acid (B) in improving cisplatin-induced ALI

综上, 本研究发现甘草次酸和甘草酸能有效缓解顺铂诱导的 ALI。其保护作用与 Akt/STAT3/HMOX1 信号轴变化密切相关, 表现为 Akt 磷酸化增强, 回调 STAT3、HOMX1、p53、HMGB1 等蛋白表达, 显著缓解顺铂诱导的大鼠氧化损伤、细胞凋亡和炎症反应。提示调控 Akt/STAT3/HMOX1 信号网络可能是甘草次酸和甘草酸发挥多靶点肝保护作用的重要分基础之一。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**参考文献**

[1] Tchounwou P B, Dasari S, Noubissi F K, *et al.* Advances in our understanding of the molecular mechanisms of action of cisplatin in cancer therapy [J]. *J Exp Pharmacol*, 2021, 13: 303-328.

[2] Liu Z J, Huang P Y, Law S, *et al.* Preventive effect of curcumin against chemotherapy-induced side-effects [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1374.

[3] Xiang Y D, Zhou X K, Zhou H, *et al.* Limonin ameliorates cisplatin-induced acute liver injury by inhibiting 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 168: 115680.

[4] 刘中良, 李航婷, 许珂, 等. 基于氧化应激-铁死亡途径探讨莫诺昔改善顺铂致肝毒性的作用机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(23): 8597-8610.

[5] 邓健浩, 张青霞. 顺铂过量致毒性反应的临床救治的文献分析 [J]. *中国药理学杂志*, 2022, 57(14): 1209-1213.

[6] Ploeger B A, Meulenbelt J, DeJongh J. Physiologically based pharmacokinetic modeling of glycyrrhizic acid, a compound subject to presystemic metabolism and

enterohepatic cycling [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2000, 162(3): 177-188.

[7] Li X, Sun R, Liu R P. Natural products in licorice for the therapy of liver diseases: Progress and future opportunities [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 144: 210-226.

[8] Yang G L, Zhang L, Ma L, *et al.* Glycyrrhetic acid prevents acetaminophen-induced acute liver injury via the inhibition of CYP2E1 expression and HMGB1-TLR4 signal activation in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 50: 186-193.

[9] Darendelioglu E, Caglayan C, Küçükler S, *et al.* 18 $\beta$ -Glycyrrhetic acid mitigates bisphenol A-induced liver and renal damage: Inhibition of TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B/p38-MAPK, JAK1/STAT1 pathways, oxidative stress and apoptosis [J]. *Food Chem Toxicol*, 2025, 196: 115218.

[10] Wang Q X, Huang Y W, Li Y, *et al.* Glycyrrhizic acid mitigates Tripterygium-Glycoside-Tablet-induced acute liver injury via PKM2 regulated oxidative stress [J]. *Metabolites*, 2022, 12(11): 1128.

[11] Dai C S, Xiao X L, Li D W, *et al.* Chloroquine ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice via the concomitant inhibition of inflammation and induction of apoptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 1164.

[12] Niknahad H, Ommati M M, Sookhak N, *et al.* Glycyrrhizic acid and the aqueous extract of *Glycyrrhiza glabra* attenuate hepatotoxicity in mice [J]. *Trend Pharm Sci*, 2021, 7(1): 59-72.

[13] Mahmoud A M, Al Dera H S. 18 $\beta$ -Glycyrrhetic acid exerts protective effects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity: Potential role of PPAR $\gamma$  and Nrf2

- upregulation [J]. *Genes Nutr*, 2015, 10(6): 41.
- [14] Yorgancilar N, Kose O, Rakici S Y, *et al.* Preventive effects of melatonin and amifostine on irradiated rats with experimental periodontitis [J]. *BMC Oral Health*, 2024, 24(1): 1453.
- [15] Tang Q, Wang X R, Jin H, *et al.* Cisplatin-induced ototoxicity: Updates on molecular mechanisms and otoprotective strategies [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2021, 163: 60-71.
- [16] Anbar H S, Shehab N G, El-Rouby N M M, *et al.* Upadacitinib protects against cisplatin-induced renal and hepatic dysfunction without impairing its anticancer activity [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2022, 172: 106149.
- [17] Yan T T, Wang H, Zhao M, *et al.* Glycyrrhizin protects against acetaminophen-induced acute liver injury via alleviating tumor necrosis factor  $\alpha$ -mediated apoptosis [J]. *Drug Metab Dispos*, 2016, 44(5): 720-731.
- [18] Pan P H, Wang Y Y, Lin S Y, *et al.* 18 $\beta$ -Glycyrrhetic acid protects against cholestatic liver injury in bile duct-ligated rats [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(5): 961.
- [19] 殷亭湄, 杨必乾, 高广森, 等. 基于非靶向代谢组学研究甘草对顺铂诱导肝损伤大鼠的保护作用 [J]. *中国药理学通报*, 2024, 40(12): 2246-2255.
- [20] Bergström P, Johnsson A, Bergenheim T, *et al.* Effects of amifostine on cisplatin induced DNA adduct formation and toxicity in malignant glioma and normal tissues in rat [J]. *J Neuro Oncol*, 1999, 42(1): 13-21.
- [21] 姚艺玮, 王勇, 何义富, 等. 氨磷汀对恶性肿瘤化疗患者肝脏保护作用的临床观察 [J]. *中国临床保健杂志*, 2018, 21(3): 302-304.
- [22] Efati M, Sahebkar A, Tavallaee S, *et al.* Protective effect of leuco-methylene blue against acetaminophen-induced liver injury: An experimental study [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2025, 48(4): 888-900.
- [23] 刘伟先, 赵靓, 张萍, 等. 氨磷汀预防顺铂化疗的血液毒性和肾毒性疗效观察 [J]. *山东医药*, 2011, 51(25): 90-91.
- [24] Bazmandegan G, Kamiab Z, Shafiei A, *et al.* Calcium dobesilate ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity by inhibiting liver oxidative stress in mice [J]. *Iran J Pharm Res*, 2023, 22(1): e126613.
- [25] Katanić Stanković J S, Selaković D, Rosić G. Oxidative damage as a fundament of systemic toxicities induced by cisplatin: The crucial limitation or potential therapeutic target? [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14574.
- [26] Basu A, Krishnamurthy S. Cellular responses to cisplatin-induced DNA damage [J]. *J Nucleic Acids*, 2010, 2010(1): 201367.
- [27] Li X, Wang L K, Wang L W, *et al.* Cisplatin protects against acute liver failure by inhibiting nuclear HMGB1 release [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(6): 11224-11237.
- [28] 朱美霞, 郝旭亮. PI3K/Akt 与细胞线粒体途径凋亡因子相关性研究进展 [J]. *生命科学研究*, 2015, 19(5): 432-436.
- [29] Wang W X, Liu M, Fu X L, *et al.* Hydroxysafflor yellow A ameliorates alcohol-induced liver injury through PI3K/Akt and STAT3/NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155814.
- [30] Chen B L, Liu J, Chang Q S, *et al.* JNK and STAT3 signaling pathways converge on Akt-mediated phosphorylation of EZH2 in bronchial epithelial cells induced by arsenic [J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(1): 112-121.
- [31] Wang H, Lafdil F, Kong X N, *et al.* Signal transducer and activator of transcription 3 in liver diseases: A novel therapeutic target [J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(5): 536-550.
- [32] Han J H, Ju J H, Lee Y S, *et al.* Astaxanthin alleviated ethanol-induced liver injury by inhibition of oxidative stress and inflammatory responses via blocking of STAT3 activity [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 14090.
- [33] Song J, Zhang X C, Liao Z B, *et al.* 14-3-3 $\zeta$  inhibits heme oxygenase-1 (HO-1) degradation and promotes hepatocellular carcinoma proliferation: Involvement of STAT3 signaling [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 3.
- [34] Ryter S W. Heme oxygenase-1: An anti-inflammatory effector in cardiovascular, lung, and related metabolic disorders [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(3): 555.
- [35] Consoli V, Sorrenti V, Grosso S, *et al.* Heme oxygenase-1 signaling and redox homeostasis in physiopathological conditions [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(4): 589.
- [36] Gao Y, Cao Z J, Yang X, *et al.* Proteomic analysis of acetaminophen-induced hepatotoxicity and identification of heme oxygenase 1 as a potential plasma biomarker of liver injury [J]. *Proteom*, 2017, 11(1/2): 1600123.
- [37] Fathy M, Darwish M A, Abdelhamid A M, *et al.* Kinetin ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity and lymphotoxicity via attenuating oxidative damage, cell apoptosis and inflammation in rats [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(7): 1620.
- [38] Toto A, Wild P, Graille M, *et al.* Urinary malondialdehyde (MDA) concentrations in the general population: A systematic literature review and Meta-analysis [J]. *Toxics*, 2022, 10(4): 160.
- [39] Chen L Y, Liu Y, Zhang Y G, *et al.* Superoxide dismutase ameliorates oxidative stress and regulates liver transcriptomics to provide therapeutic benefits in hepatic inflammation [J]. *PeerJ*, 2023, 11: e15829.

- [40] Hu Y H, Quan Z Y, Li D K, *et al.* Inhibition of CYP3A4 enhances aloe-emodin induced hepatocyte injury [J]. *Toxicol Vitro*, 2022, 79: 105276.
- [41] Quintanilha J C F, de Sousa V M, Visacri M B, *et al.* Involvement of cytochrome P450 in cisplatin treatment: Implications for toxicity [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2017, 80(2): 223-233.
- [42] Ni K D, Liu J Y. The functions of cytochrome P450  $\omega$ -hydroxylases and the associated eicosanoids in inflammation-related diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 716801.
- [43] Jhun J, Lee S, Kim H, *et al.* HMGB1/RAGE induces IL-17 expression to exaggerate inflammation in peripheral blood cells of hepatitis B patients [J]. *J Transl Med*, 2015, 13(1): 310.
- [44] Han X J, Guo X Y, Chang J, *et al.* Integrin $\beta$ 3 mediates the protective effects of soluble receptor for advanced glycation end-products during myocardial ischemia/reperfusion through Akt/STAT3 signaling pathway [J]. *Apoptosis*, 2022, 27(5): 354-367.
- [45] Rahman S R, Roper J A, Grove J I, *et al.* Integrins as a drug target in liver fibrosis [J]. *Liver Int*, 2022, 42(3): 507-521.
- [46] Ji X, Yun Y Y, Zhu Z P, *et al.* COL6A2 drives clear cell renal cell carcinoma progression via integrin-dependent modulation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling [J]. *J Cancer*, 2025, 16(15): 4426-4439.

[责任编辑 李亚楠]