

· 论著 · 一次研究 ·

槐角昔通过促进AMPK激活抑制肝脏缺血再灌注损伤

李忻炎¹, 张永慧², 董鑫然², 张晓晶², 李 锐¹

1. 武汉大学中南医院肝胆胰外科（武汉 430071）
2. 赣南医科大学药学院, 赣南创新与转化医学研究院, 重大疾病新药靶发现及新药创制全国重点实验室（江西赣州 341000）

【摘要】目的 探究天然化合物槐角昔 (SOP) 对肝脏缺血-再灌注损伤 (HIRI) 的保护作用及其分子机制, 为开发 HIRI 治疗药物提供依据。**方法** 建立体外肝细胞缺氧/复氧 (H/R) 模型及小鼠体内 HIRI 模型。体外实验采用 CCK-8 检测细胞活力, RT-qPCR 和 Western blot (WB) 分析炎症因子及相关蛋白。体内实验测定小鼠血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST) 活性, 结合 H&E 染色和免疫荧光染色评估肝组织病理损伤及细胞凋亡。运用分子对接预测 SOP 与腺苷一磷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 的相互作用, 并通过 AMPK 抑制剂 (Compound C) 验证机制。**结果** SOP 在体外可显著增强 H/R 诱导的肝细胞活性并抑制炎症因子释放, 在小鼠体内能降低血清 ALT、AST 水平, 减轻肝组织炎症浸润和细胞凋亡。机制研究表明, SOP 在体内外均能促进 AMPK 磷酸化, 分子对接分析显示其可通过氢键与 AMPK 稳定结合, 且 AMPK 抑制剂可逆转 SOP 的保护作用, 证实 AMPK 是 SOP 发挥效应的关键靶点。**结论** SOP 可通过靶向激活 AMPK 抑制 HIRI 中的炎症与凋亡, 为基于天然产物的药物开发和靶向治疗提供了新策略。

【关键词】 肝脏缺血-再灌注损伤; 槐角昔; 腺苷一磷酸活化蛋白激酶; 炎症; 凋亡

【中图分类号】 R 285.5 **【文献标识码】** A

Sophoricoside inhibits hepatic ischemia-reperfusion injury by promoting AMPK activation

LI Xinyan¹, ZHANG Yonghui², DONG Xinran², ZHANG Xiaojing², LI Kun¹

1. Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

2. School of Pharmaceutical Sciences, Gannan Medical University, Gannan Innovation and Translational Medicine Research Institute, State Key Laboratory of New Drug Target Discovery and New Drug Creation for Major Diseases, Ganzhou 341000, Jiangxi province, China

Corresponding author: LI Kun, Email: quentin2016@sina.com

【Abstract】Objective To investigate the protective effect of the natural compound sophoricoside (SOP) against hepatic ischemia-reperfusion injury (HIRI) and its underlying molecular mechanism, providing evidence for the development of HIRI therapeutics. **Methods** An *in vitro* hypoxia/reoxygenation (H/R) model in hepatocytes and an *in vivo* mouse hepatic ischemia-

DOI: 10.12173/j.issn.1005-0698.202508075

基金项目：国家自然科学基金面上项目（82170595）

通信作者：李锐，博士，主任医师，副教授，硕士研究生导师，Email: quentin2016@sina.com

reperfusion injury (HIRI) model were established. *In vitro*, cell viability was assessed by CCK-8 assay, while inflammatory cytokines and related proteins were analyzed using RT-qPCR and Western blot (WB). In mice, serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activities were measured. Hepatic pathological damage and apoptosis were evaluated by H&E staining and immunofluorescence staining. Molecular docking predicted the interaction between SOP and AMP-activated protein kinase (AMPK), which was then validated using the AMPK inhibitor Compound C. **Results** SOP significantly enhanced hepatocyte viability and suppressed inflammatory cytokine production under H/R conditions *in vitro*. In mice, SOP reduced serum ALT and AST levels, alleviated hepatic inflammation, and decreased apoptosis. Mechanistic studies indicated that, SOP promoted AMPK phosphorylation in both *in vitro* and *in vivo*. Molecular docking indicated stable binding of SOP to AMPK through hydrogen bonding. The protective effects of SOP were reversed by AMPK inhibition, confirming AMPK as a critical target of SOP action. **Conclusion** SOP exerts a protective effect against HIRI by targeting and activating AMPK to inhibit inflammation and apoptosis, providing a new strategy for natural product-based drug development and targeted therapy for HIRI.

【Keywords】Hepatic ischemia-reperfusion injury; Sophoricoside; AMP-activated protein kinase; Inflammation; Apoptosis

肝脏缺血-再灌注损伤 (hepatic ischemia reperfusion injury, HIRI) 是部分肝切除与肝移植术中常见的病理生理现象，其机制为缺血器官因血液供应不足导致缺氧、细胞代谢紊乱，而血流恢复后氧与营养供应仍不足，同时伴随代谢副产物蓄积^[1]。HIRI 多发生于需肝脏离断的手术中，是导致手术失败及患者死亡的原因之一^[2-5]。早期缺血状态会引起三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 耗竭及毒性代谢物堆积，直接导致肝细胞损伤并诱发凋亡与坏死，释放危险模式信号分子激活库普弗细胞和中性粒细胞，引发炎症性损伤；再灌注阶段，活化的免疫细胞通过释放细胞因子、趋化因子及细胞黏附分子，驱动中性粒细胞和淋巴细胞浸润肝组织，从而加剧肝细胞损伤^[6-7]。同时活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的过量生成一方面通过激活氧化还原调控的 c-Jun 氨基末端激酶 1/2 (c-Jun N-terminal kinase 1/2, JNK1/2) 和核转录因子 κB (nuclear factor kappa B, NF-κB) 通路，破坏机体氧化还原稳态，从而诱发炎症反应^[1, 8]，另一方面 ROS 可扩散进入肝细胞，引起线粒体功能障碍，进一步导致细胞内钙离子浓度失衡并最终启动细胞凋亡过程^[9]。因此，HIRI 实质上是由能量代谢障碍、氧化应激和炎症反应相互耦合所驱动的复杂病理过程。尽管相关机制研究已有进展，但临幊上仍缺乏有效的靶向性治疗手段。

研究^[10]表明，腺苷一磷酸活化蛋白激酶

(AMP-activated protein kinase, AMPK) 是 HIRI 的关键调控因子。AMPK 信号通路通过调节炎症、凋亡及氧化应激减轻肝脏缺血再灌注损伤^[11]。AMPK 的激活可促进 ATP 生成，以代偿缺血 / 再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 期间的能量不足，如增强葡萄糖摄取、糖酵解及脂肪酸氧化^[12]。此外，AMPK 激活还能够抑制细胞凋亡^[13-15]。临幊上针对 HIRI 现有治疗以抗炎、抗氧化、改善微循环等支持性疗法为主^[16-17]，缺乏针对患者的个体化治疗方案，有效治疗方法和药物仍然有限。因此，AMPK 不仅是解释 HIRI 病理过程的重要分子节点，也为寻找潜在干预药物提供了可行靶点。

近年来，天然药物在疾病防治领域展现出广阔的应用前景。作为传统中药的重要来源，豆科植物槐树 *Sophora japonica* L. 的干燥花蕾槐米和成熟果实槐角具有悠久的药用历史。研究表明，从槐树种子中提取的异黄酮类活性成分槐角苷 (sophoricoside, SOP) 具有广泛的药理活性，包括显著的抗肿瘤^[18]、抗过敏^[19] 及抗炎作用^[20] 等。在机制研究方面，Wu 等^[21] 通过建立脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠模型，发现 SOP 预处理可改善微血管通透性，抑制中性粒细胞浸润，并下调肿瘤坏死因子 -α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素 -1β (interleukin-1β, IL-1β) 和白细胞介素 -6 (interleukin-6, IL-6) 等促炎因子的表达，显著减轻肺组织病理损伤。此

外, SOP 还能够通过调节 Th1/Th2 免疫平衡, 抑制 IgE 介导的过敏反应, 从而有效缓解气道高反应性和哮喘症状。值得注意的是, 最新研究发现 SOP 还可通过激活 AMPK/mTORC1 信号通路, 提升心肌细胞自噬水平, 进而改善压力负荷诱导的心肌肥厚^[22]。综上, SOP 具有调控免疫反应、炎症过程及 AMPK 信号通路等方面的作用, 可能成为缓解 HIRI 的潜在干预剂。

本研究旨在探究天然化合物 SOP 对 HIRI 的保护作用及其分子机制。通过建立体外肝细胞 H/R 模型及小鼠体内 HIRI 模型, 结合细胞活力检测、炎症因子分析、血清酶学测定、组织病理学评估及分子对接实验, 对 SOP 在 HIRI 过程中的肝细胞损伤、炎症反应及细胞凋亡进行了系统研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

1.1.1 药品与试剂

槐角苷 (Lot: 524376) 和 Compound C (Lot: 865492) 购于美国生物活性分子大师公司 (MedChemExpress); DMEM 高糖培养基 (Lot: WH0124E132) 购于武汉普诺赛生物科技有限公司; DMEM 无糖培养基 (Lot: 28546631) 购于美国赛默飞世尔科技有限公司 (ThermoFisher); 胎牛血清 (Lot: FBS-S010918) 购于新西兰 NEWZERUM 公司; 青霉素 - 链霉素溶液 (Lot: BLCK017E0817) 购于江西惠康科技有限公司; p-IKKβ (Lot: 1)、IKKβ (Lot: 3)、IKβα (Lot: 2)、p-p65 (Lot: 4)、p65 (Lot: 3)、Bad (Lot: 3)、Bcl2 (Lot: 4)、Bax (Lot: 4)、p-AMPK (Lot: 2)、AMPK (Lot: 3)、GAPDH (Lot: 4) 蛋白一抗均购于美国 CST 公司 (Cell Signaling Technology); WB 二抗 (Lot: 152551、152534) 购于美国杰克森公司 (Jackson); CCK-8 试剂盒 (Lot: DV651) 购于日本同仁化学研究所 (DOJINDO); 苏木精染液 (Lot: CR2024211) 购于武汉塞维尔生物科技有限公司; 伊红染液 (Lot: 2024106) 购于上海贝斯昂科生物科技有限公司; CD11b 一抗 (Lot: B0S6695BP3337) 购于武汉博士得生物技术有限公司; CD11b 二抗 (Lot: 2284593) 购于美国赛默飞世尔科技有限公司 (ThermoFisher); TUNEL 试剂盒 (Lot: 73671587) 购于瑞士罗氏公司

(ROCHE); DAPI 染色液 (Lot: D3619-PI19B) 购于美国南方生物科技公司 (SouthernBiotech)。

1.1.2 仪器

蠕动泵 (HY-N0423) 购于英国兰格恒流泵有限公司 (LongerPump); 常温离心机 (75009880)、二氧化碳培养箱 (371GP)、4 °C 离心机 (75002543) 购于美国赛默飞世尔科技有限公司 (ThermoFisher); 多功能酶标仪 (SpectraMax i3X) 购于美国美谷分子仪器公司 (Molecular Device); PCR 仪 (1861096) 购于美国伯乐公司 (BIO-RAD); 实时荧光定量 PCR 仪 (LightCycle 480 Instrument II) 购于瑞士罗氏公司 (Roche); 全自动生化分析仪 (ADVIA 2400) 购于德国西门子公司 (SIMENS)。

1.2 实验动物

雄性 C57BL/6J 小鼠 (8 周龄, 体重 24~27 g) 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号为 SCXK (京) 2016-0006, 饲养及处理均遵循《实验动物护理和使用指南》。所有动物实验方案均通过赣南创新与转化医学研究院实验动物使用与管理委员会审查和批准, 伦理审查受理号为 GIMI-K2024150 (中国赣州)。实验动物均饲养于无特定病原体 (SPF) 级动物房, 环境温度控制在 (24 ± 2) °C, 湿度 45%~65%, 12 h 光照/黑暗循环, 期间自由摄食饮水。实验过程中严格遵循动物福利原则。

1.3 动物实验

1.3.1 动物分组

雄性 C57BL/6J 小鼠 (8 周龄, 体重 24~27 g) 共 50 只, 随机分为 5 组 (每组 10 只): Sham 组, 术前腹腔注射等体积二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO), 仅行开腹术后关闭腹腔, 不实施 I/R 处理; 0-I/R 组, 术前腹腔注射等体积 DMSO, 随后实施 I/R 手术; L-I/R 组, 术前 1 h 腹腔注射低剂量 SOP (30 mg · kg⁻¹), 随后实施 I/R 手术; M-I/R 组, 术前 1 h 腹腔注射中剂量 SOP (60 mg · kg⁻¹), 随后实施 I/R 手术; H-I/R 组: 术前 1 h 腹腔注射高剂量 SOP (90 mg · kg⁻¹), 随后实施 I/R 手术。SOP 剂量范围参考文献^[23-26]确定。

1.3.2 肝脏 I/R 模型建立

小鼠采用 3% 戊巴比妥钠 (80 mg · kg⁻¹) 腹腔注射麻醉, 麻醉成功后取仰卧位, 四肢以医用

胶带固定于手术台。术区常规备皮，并依次用碘伏和 75% 乙醇消毒。参照 Tsung 等^[27] 的方法建立肝脏 I/R 模型：在腹正中切开约 1 cm 切口，分离肝左叶及中叶的门静脉和肝动脉分支，使用无创血管夹阻断血流，造成约 70% 的肝组织缺血。阻断 30 s 后，缺血叶肝脏由红润转为苍白，与未阻断的右叶形成鲜明对比，提示阻断成功。随后暂时关闭切口，并在术中持续使用 37 °C 恒温垫维持体温。假手术组除不实施血管阻断外，其余操作完全相同。

持续缺血 60 min 后，重新开腹并移除血管夹恢复血流。肉眼可见缺血区肝脏在 30 s 内由苍白转为鲜红，提示再灌注成功。术后待小鼠清醒后送回饲养室，持续观察其生存状态。再灌注 3 h 后，采用过量戊巴比妥钠（120 mg · kg⁻¹）处死小鼠并取材。采集的血液样本室温静置 2 h 后，于 4 °C、离心（1 500 × g）10 min 分离血清，80 °C 保存。另取肝左叶组织用于病理学检测，肝中叶组织用于分子生物学分析。

1.3.3 肝功能检测

模型建立完成后，取各组血清样本进行检测。其中肝脏 I/R 组血清用生理盐水稀释 15 倍，假手术组血清未经稀释处理。采用生化分析仪测定血清丙氨酸转氨酶（alanine aminotransferase, ALT）和天冬氨酸转氨酶（aspartate aminotransferase, AST）水平。

1.3.4 H&E染色

取肝左叶组织置于 10% 中性甲醛水溶液固定缓冲液固定 72 h，经梯度脱水、石蜡包埋后制成 5 μm 厚切片。采用 H&E 染色观察肝组织形态学改变。使用 Image Pro Plus 软件分析并定量组织坏死区域面积，每只小鼠至少选取 5 个视野计算坏死区域占组织切片总面积的百分比。

1.3.5 免疫荧光染色

CD11b 免疫荧光染色：肝组织切片经乙二胺四乙酸高温修复抗原后，用 10% 牛血清蛋白封闭。随后与 CD11b 一抗 4 °C 孵育过夜，磷酸盐缓冲液（phosphate-buffered saline, PBS）洗涤 3 次后，加入 Alexa Flour[®] 568 标记山羊抗兔 IgG (H+L) 二抗 37 °C 孵育 60 min。细胞核采用 DAPI 染色。染色完成后，于尼康 ECLIPSE 80i 显微镜下观察。

TUNEL 免疫荧光染色：按照 TUNEL 检测试剂盒说明书进行操作。细胞核采用 DAPI 复染，

染色完成后于尼康 ECLIPSE 80i 显微镜下观察。

1.4 细胞实验

1.4.1 原代肝细胞分离

采用 IV 型胶原酶消化法^[28] 分离 6~8 周龄雄性小鼠原代肝细胞。麻醉小鼠后开腹暴露腹腔，于下腔静脉置入留置针，使用 37 °C 恒温肝灌流液进行肝脏灌注。待肝脏适度充盈后，剪断门静脉充分灌流冲洗血液。随后换用含 IV 型胶原酶的消化液继续灌注消化。消化完成后取出全肝，撕破肝被膜释放肝细胞，细胞悬液经 70 μm 滤网过滤后，4 °C、离心（50 × g）3 min 收集肝细胞。

1.4.2 细胞培养与缺氧复氧实验

实验选用原代肝细胞，共设置 5 组。Ctrl 组：先以 0.1%DMSO 预处理 1 h，之后置于正常空气条件（5%CO₂）下培养；0-H/R 组：先以 0.1%DMSO 预处理 1 h，随后进行缺氧复氧（hypoxia/reoxygenation, H/R）处理；L-H/R 组：术前 1 h 用 10 μmol · L⁻¹ SOP 预处理，之后进行 H/R 处理；M-H/R 组：术前 1 h 用 25 μmol · L⁻¹ SOP 预处理，之后进行 H/R 处理；H-H/R 组：术前 1 h 用 50 μmol · L⁻¹ SOP 预处理，之后进行 H/R 处理。

H/R 处理具体操作：将细胞置于无糖无血清 DMEM 培养基中，在缺氧条件（94%N₂、1%O₂ 和 5%CO₂）下培养 6 h；之后更换为含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素 - 链霉素的正常 DMEM 培养基，在正常空气条件（5%CO₂）下，于 37 °C 复氧 6 h。

AMPK 抑制实验：设置 3 组。0-H/R 组：先以 0.1%DMSO 预处理 1 h，随后进行 H/R 处理；H-H/R 组：术前 1 h 用 50 μmol · L⁻¹ SOP 预处理，之后进行 H/R 处理；H+CC-H/R 组：在 50 μmol · L⁻¹ SOP 处理同时加入 5 μmol · L⁻¹ AMPK 抑制剂 Compound C (CC) 共孵育，随后进行 H/R 处理。

1.4.3 细胞活力检测

采用 CCK-8 试剂盒检测细胞活力。按实验要求将细胞（8 × 10³ 个 / 孔）接种于 96 孔板，每组设 5 个复孔，同时设立 3 个不含细胞的空白对照孔。处理结束后，每孔加入 CCK-8 反应液，继续培养 2~3 h，使用酶标仪在 450 nm 波长处测定光密度（optical density, OD）值。

1.5 RT-qPCR 检测

采用 TRIzol 试剂提取肝组织或细胞样本总 RNA，按照 Transcriptor 第一链 cDNA 合成试剂盒

说明书进行逆转录反应。使用 SYBR Green PCR 预混液进行定量 PCR 检测。反应程序设置为：95 °C 预变性 5 min；95 °C 变性 10 s、60 °C 退火 10 s，72 °C 延伸 10 s，共 40 个循环。以 β -actin 为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta C_q}$ 法计算目的基因 mRNA 相对表达量。所用引物序列见表 1。

1.6 Western blot 分析

取肝组织或细胞样本，加入放射免疫沉淀法裂解缓冲液（含蛋白酶抑制剂）提取总蛋白，采用二喹啉甲酸法测定蛋白浓度。取等质量蛋白样品上样至十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶，电泳后转印至聚偏二氟乙烯膜。用含 0.1% Tween-20 的三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液缓冲液配制 5% 脱脂牛奶封闭液，室温封闭 1 h。三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液洗涤 3 次（每次 5 min）后，与一抗 4 °C 孵育过夜。再次使用三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液洗涤后，与相应二抗室温孵育 1 h。最后使用化学发光显影系统检测信号。

1.7 RNA 测序与数据分析

采用 Trizol 试剂从肝脏组织中提取总 RNA，使用 Nanodrop-1000 分光光度计测定 RNA 浓度与

纯度，并通过琼脂糖凝胶电泳验证 RNA 完整性。选取质量较高的样本（260 nm/280 nm 吸光度比值 > 1.9）进行 RNA 测序。根据测序平台操作指南构建测序文库，随后使用 MGISEQ-2000 RS 测序平台进行双端 50 bp 测序。

原始双端测序数据通过转录组拼接比对软件 HISAT2 (Hierarchical Indexing for Spliced Alignment of Transcripts 2) 比对至小鼠参考基因组 (*mm10/GRCm38*)。利用序列比对工具 SAMtools 将序列比对 / 映射格式 (sequence alignment/map, SAM) 文件转换为二进制比对 / 映射格式 (binary alignment/map, BAM) 文件。随后，使用 StringTie 软件默认参数计算各鉴定基因的每千碱基外显子模型每百万映射片段数 (fragments per kilobase of exon model per million mapped fragments, FPKM) 值。

在主成分分析 (principal component analysis, PCA) 中，采用 R 语言 gmodels 软件包中的 fast.prcomp 函数，并通过二维散点图可视化主成分 1 (PC1) 和主成分 2 (PC2) 的数值。在基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 中，根据基因差异表达水平对基因进行排序，基于京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia

表 1 qRT-PCR 所用引物
Table 1. Primers used for qRT-PCR

基因	种属		5'-3'序列
<i>Tnf-α</i>	Mouse	F	CATCTTCTCAAAATCGAGTGACAA
		R	TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC
<i>Il-6</i>	Mouse	F	TAGTCCTTCCTACCCCAATTTC
		R	TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC
<i>Il-8</i>	Mouse	F	GGATCCTGATGCTCCATGG
		R	CAGAAGCTTCATTGCCGGTG
<i>Il-1β</i>	Mouse	F	CCGTGGACCTTCAGGATGA
		R	GGGAACGTCACACACCAGCA
<i>Ccl2</i>	Mouse	F	TACAAGAGGATCACCAAGCAGC
		R	ACCTTAGGGCAGATGCAGTT
<i>Ccl5</i>	Mouse	F	TGCTGCTTTGCCTACCTCTC
		R	TCTTCTCTGGGTTGGCACAC
<i>Bad</i>	Mouse	F	CCAGAGTTGAGCCGAGTGAGCA
		R	ATAGCCCCTGCGCCTCCATGAT
<i>Bax</i>	Mouse	F	TGAGCGAGTGTCTCCGGCGAAT
		R	GCACTTTAGTGCACAGGGCCTG
<i>Bcl2</i>	Mouse	F	TGAGCGAGTGTCTCCGGCGAAT
		R	GCACTTTAGTGCACAGGGCCTG
<i>Actin</i>	Mouse	F	GTGACGTTGACATCCGTAAAGA
		R	GCCGGACTCATCGTACTCC

of Genes and Genomes, KEGG) 数据库的基因集被检测是否集中分布于排序列表的顶部或底部，以探究整体表达变化。采用 Java GSEA 软件，以“Signal2Noise”为指标进行 GSEA 分析，将 $P < 0.05$ 且错误发现率 (false discovery rate, FDR) < 0.25 的基因集视为具有统计学显著性。在 KEGG 通路分析中，根据 KEGG 数据库的注释结果及官方分类，将差异表达基因归类至不同信号通路。使用 R 语言 phyper 函数对所有差异表达基因进行富集分析，将 $P < 0.05$ 的通路定义为显著富集通路。热图采用 R 语言 pheatmap 包绘制。

1.8 分子对接分析

以 AMPK 晶体结构 (PDB ID: 4QFR) 作为模板，使用 Schrödinger 软件的“蛋白质制备向导”(Protein Preparation Wizard, Schrödinger LLC, 纽约, 2021 版) 对蛋白质结构进行预处理，小分子化合物则通过 Ligprep 模块进行制备。结合区域通过一个以晶体结构中配体质心为中心、尺寸与配体相近的立方体框进行定义。对接与评分采用高精度 (extra precision, XP) 模式，其他参数均保留默认设置。最终基于 Glide 评分值及蛋白-配体相互作用分析，输出最优对接构象。

1.9 统计学分析

使用 SPSS 29.0 软件进行数据分析，所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SOP 抑制 H/R 诱导的肝细胞损伤、炎症反应及凋亡

为探究 SOP 是否对 H/R 诱导的肝细胞损伤具有调控作用，本研究采用不同浓度 SOP 预处理肝细胞后进行 H/R 刺激。如图 1-A 所示，SOP 可显著抑制 H/R 刺激引起的细胞活力下降，且抑制作用随 SOP 浓度升高而增强。此外，SOP 对炎症反应的抑制作用同样呈现浓度依赖性，表现为 H/R 诱导的 *Tnf*、*Il6*、*Il8* 及 *Ccl2* 上调幅度降低，同时抑制 NF-κB 信号通路的激活 (图 1-B 至图 1-F)。进一步分析发现，随着 SOP 浓度升高，H/R 处理导致的促凋亡分子 (Bad 和 Bax) 表达上调及抗凋亡分子 (Bcl2) 表达下调均得到逆转 (图 1-G)

至图 1-I)。综上，这些结果表明 SOP 可在体外有效抑制 H/R 诱导的肝细胞损伤、炎症反应及细胞凋亡。

2.2 SOP 减轻小鼠 HIRI

为进一步探究 SOP 对体内 HIRI 的影响，选取雄性 C57BL/6J 小鼠 (8 周龄，体重 24~27 g) 给予不同浓度的 SOP 预处理，随后实施肝脏 I/R 手术。结果显示，再灌注后，经 SOP 处理的小鼠血清 ALT 和 AST 水平显著低于未处理组小鼠 (图 2-A 和图 2-B)。此外，组织学分析表明，SOP 处理组小鼠的肝脏坏死程度较未处理组更轻，坏死面积随 SOP 浓度升高呈比例性减小 (图 2-C)。综上，结果证实 SOP 可减轻小鼠肝 I/R 诱导的肝损伤。

2.3 SOP 减轻肝脏 I/R 诱导的炎症反应

在 HIRI 过程中，炎症反应是导致肝细胞损伤的重要因素 [29~30]。为探究 SOP 对 HIRI 期间炎症反应的影响，本研究通过 CD11b 免疫荧光染色分析肝组织中炎症细胞的浸润情况。结果显示，小鼠肝脏 I/R 造模后，SOP 给药组肝组织中 CD11b 阳性浸润炎症细胞的数量显著低于未给药组 (图 3-A)。此外，SOP 给药组小鼠肝脏中促炎基因 (包括 *Tnf*、*Il1b*、*Il6*、*Ccl2* 和 *Ccl5*) 的表达水平较未给药组显著降低 (图 3-B 至图 3-F)。进一步检测发现，SOP 给药组 NF-κB 信号通路的激活被抑制，表现为 IKKβ 和 p65 的磷酸化水平降低，同时总 IkBα 蛋白水平升高 (图 3-G)。表明 SOP 可抑制肝脏 I/R 诱导的炎症反应，且 SOP 浓度越高，抑制作用越强。

2.4 SOP 减轻肝脏 I/R 诱导的细胞凋亡

为探究 SOP 对肝脏 I/R 过程中细胞死亡的影响，采用 TUNEL 染色法进行分析。结果显示，与未给药组小鼠相比，SOP 给药组肝细胞凋亡显著受到抑制 (图 4-A)。进一步检测发现，SOP 给药组小鼠肝组织中促凋亡分子 Bad 和 Bax 的 mRNA 及蛋白表达水平均较未给药组降低，而抗凋亡因子 Bcl2 的表达水平则显著升高 (图 4-B 至图 4-E)。上述结果提示 SOP 可减轻肝脏 I/R 诱导的肝细胞凋亡。

2.5 SOP 通过多靶点调控抑制肝 HIRI 中的炎症与凋亡反应

为系统解析 SOP 的调控网络，对 SOP 处理的肝脏 I/R 模型组和对照组肝组织进行 RNA 测

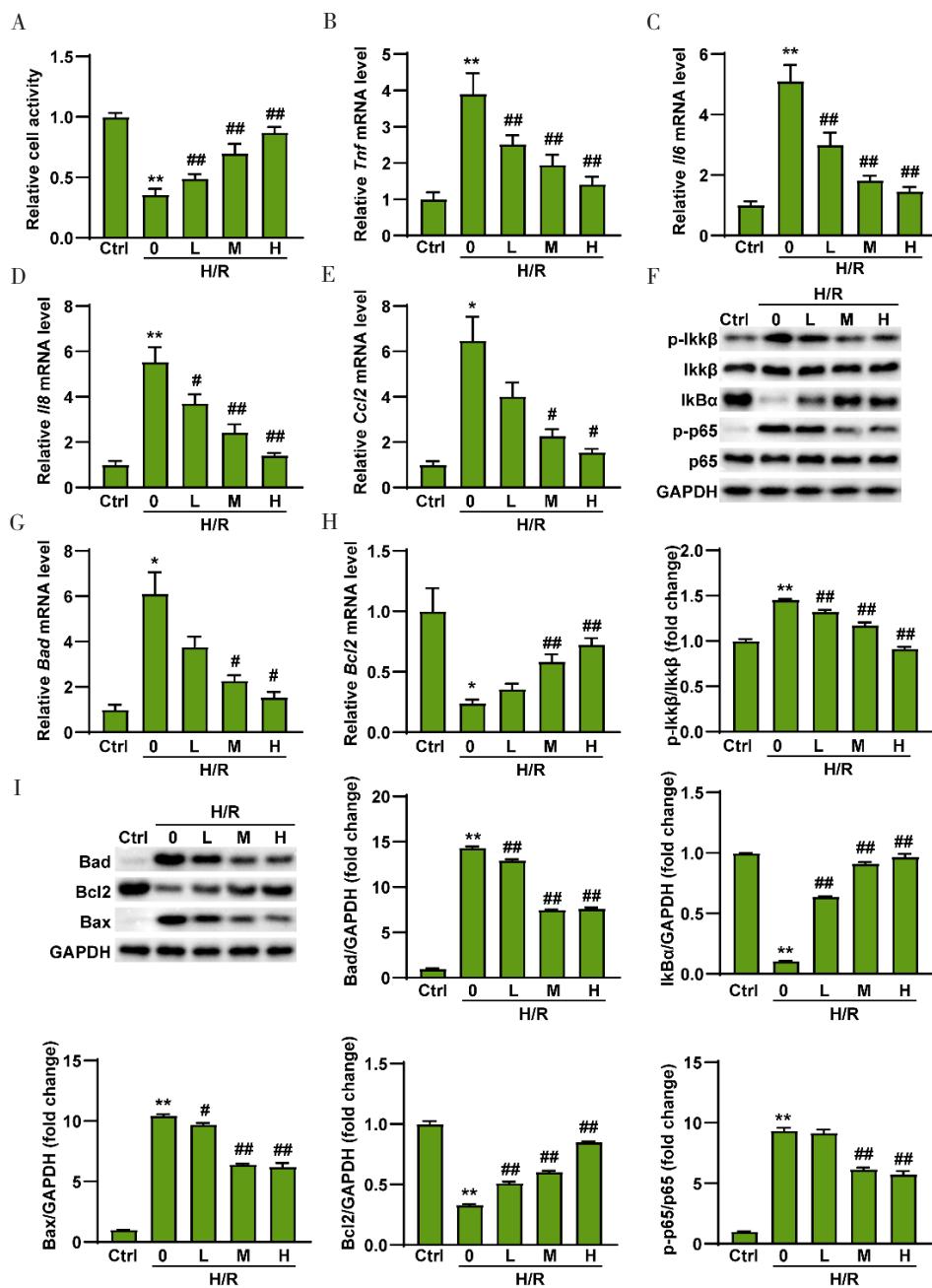


图1 SOP抑制H/R诱导的肝细胞损伤、炎症反应及细胞凋亡

Figure 1. SOP inhibits H/R-induced hepatocyte injury, the inflammatory response and apoptosis

注：A. CCK-8法检测小鼠原代肝细胞活力；B-E. RT-qPCR检测小鼠原代肝细胞炎症相关基因mRNA表达水平；F. Western blot检测小鼠原代肝细胞NF-κB信号通路相关蛋白的表达水平及其半定量分析；G和H. RT-qPCR检测小鼠原代肝细胞凋亡相关基因mRNA表达水平；I. Western blot检测小鼠原代肝细胞凋亡相关蛋白表达水平结果及其定量分析；与Ctrl比较，*P<0.05，**P<0.01；与0-H/R组比较，#P<0.05，##P<0.01。

序分析。PCA 显示两组样本明显分离，表明存在显著差异（图 5-A）。GSEA 提示对照组中白细胞跨内皮迁移、TNF 信号通路、NF-κB 信号通路、MAPK 信号通路及细胞凋亡等炎症与凋亡相关通路显著激活，而 SOP 处理可整体抑制上述通路（图 5-B 和图 5-C）。热图分析显示，SOP 给药后炎症与凋亡相关核心基因表达水平普遍下调（图 5-D）。综上，本研究从转录组学层面证实

SOP 可抑制肝脏缺血再灌注损伤引发的炎症与凋亡反应。

2.6 SOP通过激活AMPK抑制H/R诱导的肝细胞损伤、炎症及凋亡

KEGG 通路分析显示，AMPK 信号通路变化最为显著，提示 SOP 可能通过调控 AMPK 影响肝脏缺血再灌注损伤进程（图 6-A）。本研究检测了 SOP 处理后 H/R 肝细胞及 I/R 肝组织中 AMPK

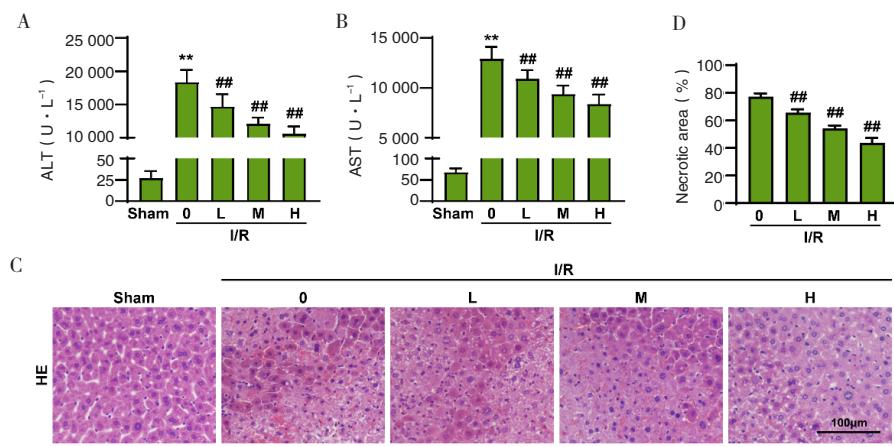


图2 SOP减轻小鼠HIRI

Figure 2. SOP alleviates HIRI in mice

注：A和B. 小鼠血清ALT (A) 和 AST (B) 水平 ($n=10$)；C. 小鼠肝组织H&E染色图像 ($200\times$)；D. 小鼠肝组织坏死水平定量分析 ($n=6$)；与Sham组比较， $^*P<0.05$ ， $^{**}P<0.01$ ；与0-I/R组比较， $^{\#}P<0.05$ ， $^{\#\#}P<0.01$ 。

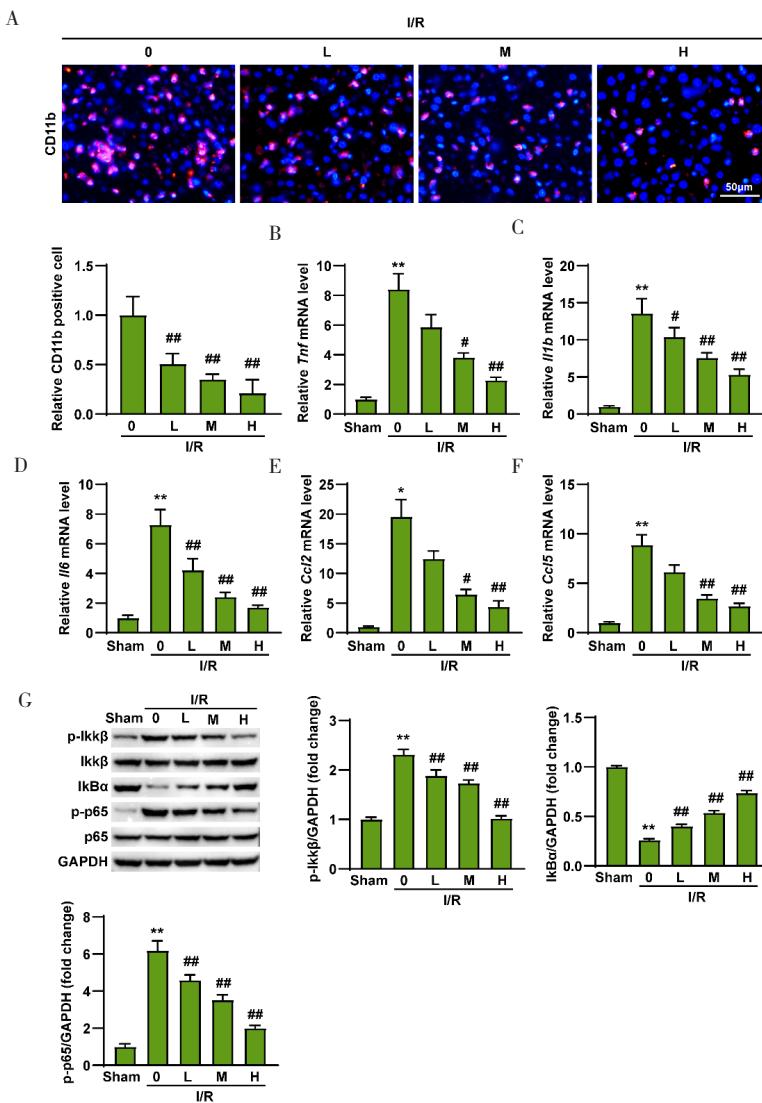


图3 SOP减轻肝脏I/R诱导的炎症反应

Figure 3. SOP reduces hepatic I/R-induced inflammation

注：A. 小鼠肝组织CD11b免疫荧光染色图像及其定量分析 ($200\times$)， $n=4$ ；B~F. RT-qPCR检测小鼠肝组织炎症相关基因mRNA表达水平 ($n=4$)；G. Western blot检测小鼠肝组织NF-κB信号通路相关蛋白表达水平及其半定量分析 ($n=3$)；与Sham组比较， $^*P<0.05$ ， $^{**}P<0.01$ ；与0-I/R组比较， $^{\#}P<0.05$ ， $^{\#\#}P<0.01$ 。

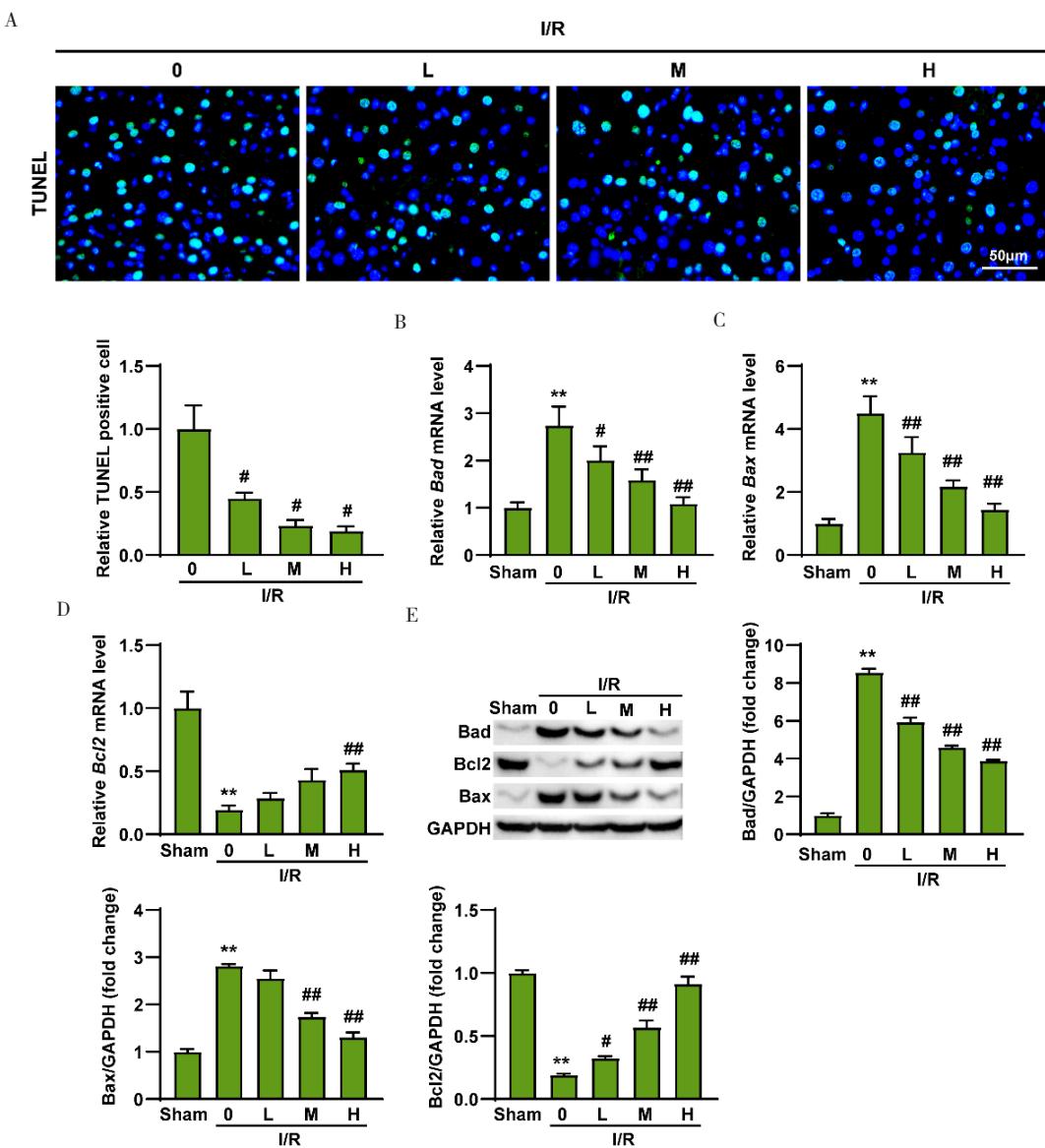


图4 SOP减轻肝脏I/R诱导的细胞凋亡
Figure 4. SOP reduces hepatic I/R-induced apoptosis

注：A. TUNEL法检测小鼠肝组织凋亡水平及定量分析（ $200\times$ ），n=4；B~D. RT-qPCR检测小鼠肝组织凋亡相关基因mRNA表达水平（n=3）；E. Western blot检测小鼠肝组织凋亡相关蛋白的表达水平及半定量分析（n=3）；与Sham组比较，*P<0.05，**P<0.01；与0-I/R组比较，#P<0.05，##P<0.01。

及其磷酸化蛋白水平。Western blot结果显示，与H/R或I/R组相比，SOP给药组AMPK磷酸化水平显著升高（图6-B和图6-C），表明SOP可促进HRI中AMPK的激活。

为验证SOP对HRI的保护作用是否依赖AMPK激活，分别及联合使用SOP和AMPK抑制剂(CC)处理肝细胞后进行H/R刺激。Western blot检测发现CC可完全阻断SOP对AMPK的激活作用（图6-D）。此外，SOP对H/R诱导的细胞损伤、炎症反应及凋亡的抑制作用也被CC逆转（图6-E至图6-G）。

进一步通过Schrödinger软件分子对接分析显示，SOP与AMPK(PDB ID: 4QFR)之间存在稳定相互作用，其XP Gscore值为-6.549，低于已报道的AMPK激活剂Cl-A769662(XP Gscore=-8.487)^[31]。根据PDB数据库，AMPK由三个亚基组成：链A(AMPK催化亚基 $\alpha 1$)、链B(AMPK调节亚基 $\beta 1$)和链C(AMPK调节亚基 $\gamma 1$)。SOP与链A的Gly19、Lys31、Asp88以及链B的Asp108、Asn111形成的氢键共同维持了这种稳定相互作用（图7）。上述结果表明AMPK介导了SOP对肝脏I/R损伤的保护作用。

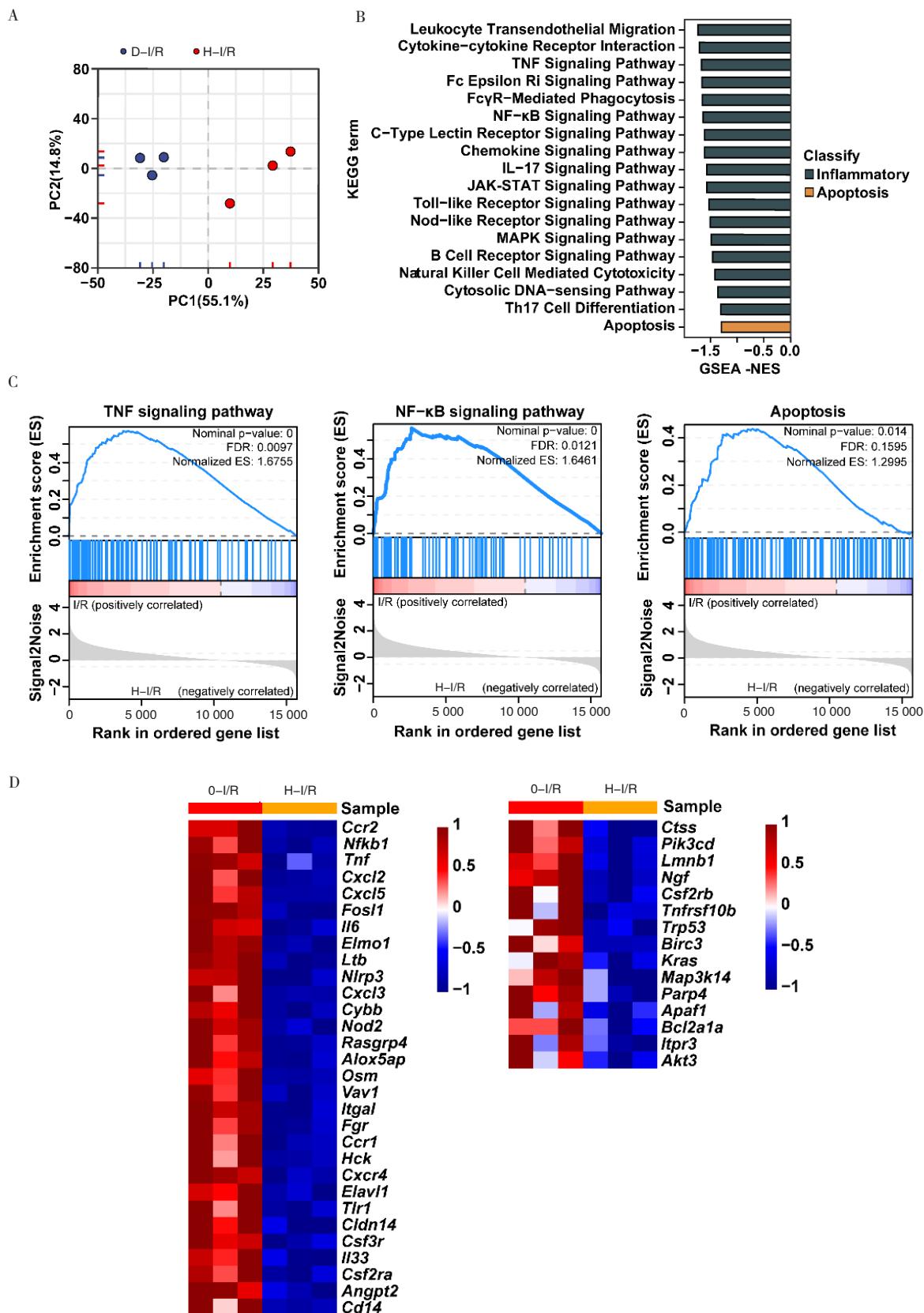


图5 肝脏I/R模型中SOP给药的RNA测序分析结果

Figure 5. RNA-Seq analysis results from mice livers administrated with or without SOP after I/R

注：A. PCA结果（n=3）；B. 基于KEGG数据库的GSEA柱状图（n=3）；C. TNF信号通路、NF-κB信号通路及细胞凋亡的GSEA评分图；D. 显示炎症相关(左)和凋亡相关(右)核心基因表达差异。

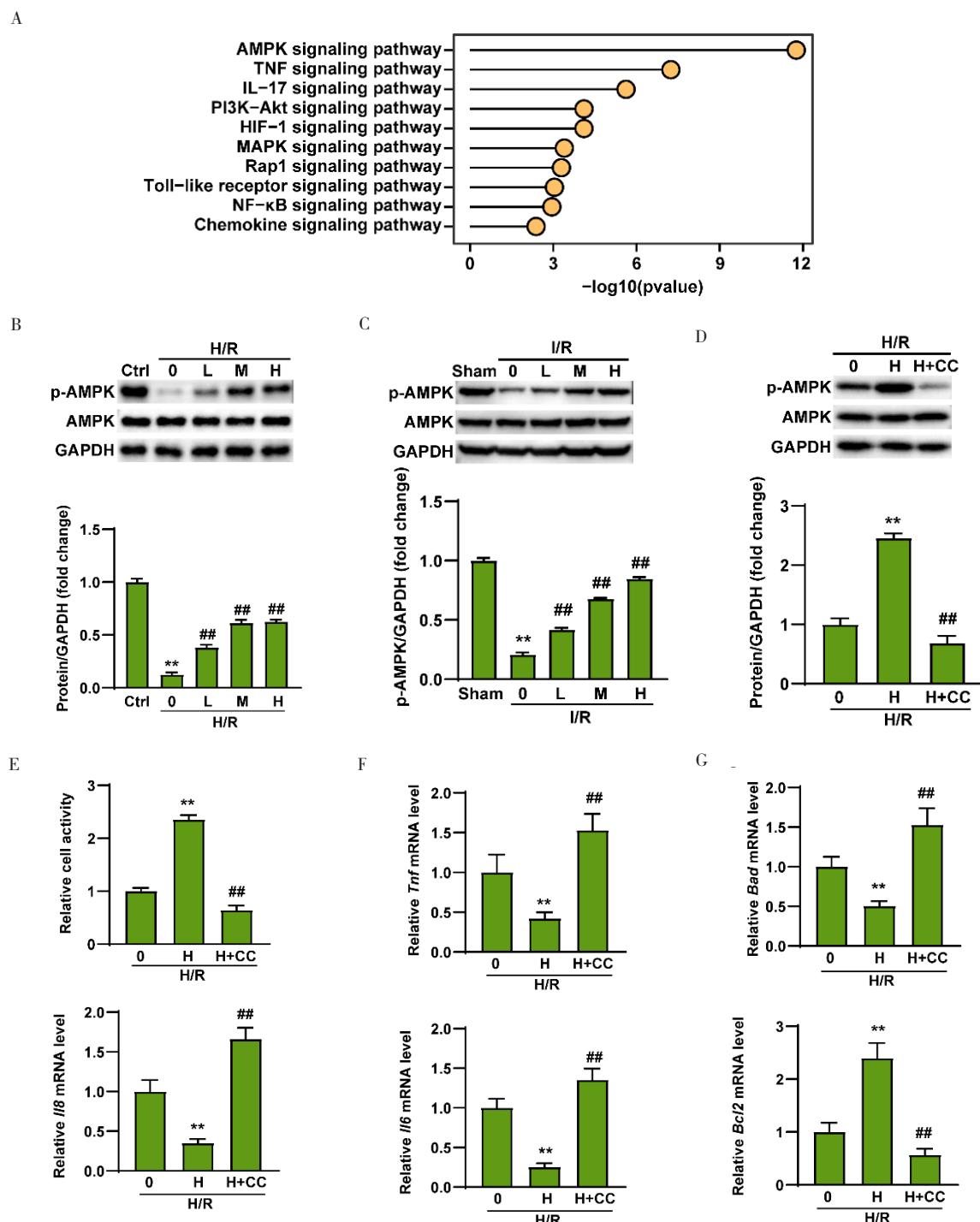


图6 SOP通过激活AMPK抑制H/R诱导的肝细胞损伤、炎症及凋亡

Figure 6. SOP inhibits H/R-induced hepatocyte injury, inflammation and apoptosis via activation of AMPK

注: A. RNA-seq数据库的KEGG富集分析; B. Western blot检测小鼠原代肝细胞总AMPK及磷酸化AMPK蛋白表达水平及半定量分析; C. Western blot检测小鼠肝组织总AMPK及磷酸化AMPK蛋白表达水平及半定量分析($n=3$) ; D. 使用SOP与CC处理, Western blot检测小鼠原代肝细胞总AMPK及磷酸化AMPK蛋白表达水平及半定量分析; E. 使用SOP与CC处理, CCK-8法检测小鼠原代肝细胞活力; F. 使用SOP与CC处理, RT-qPCR检测小鼠原代肝细胞炎症相关基因mRNA表达水平; G. 使用SOP与CC处理, RT-qPCR检测小鼠原代肝细胞凋亡相关基因mRNA表达水平; (B和C)与Ctrl(或Sham)组比较, $P<0.05$, $**P<0.01$; 与0-H/R(或0-I/R)组比较, $^P<0.05$, $^{##}P<0.01$; (D~G)与0-H/R组比较, $*P<0.05$, $^{**}P<0.01$; 与H-H/R组比较, $^P<0.05$, $^{##}P<0.01$ 。

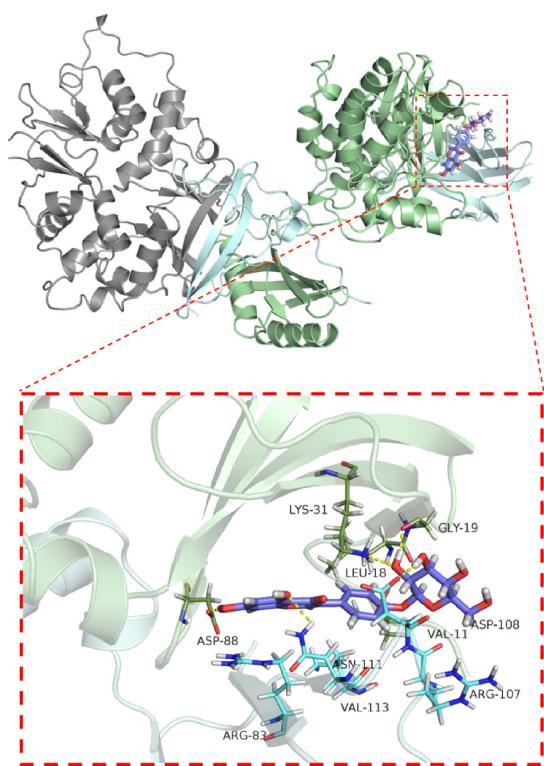


图7 腺苷酸活化蛋白激酶 (PDB ID: 4QFR) 与 SOP 的分子动力学模拟 (上) 和对接 (下)

Figure 7. The molecular dynamic stimulation (upper) and docking (down) of AMPK (PDB ID: 4QFR) and SOP

3 讨论

HIRI 是肝切除及肝移植术中常见的病理过程，以缺血期的能量代谢障碍与再灌注期的氧化应激、炎症反应及细胞凋亡共同导致的肝功能损伤为主要特征^[32–34]。再灌注后大量炎性细胞浸润，释放 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症介质，激活 NF- κ B 等信号通路，进一步促进细胞凋亡，加重组织损伤^[35–36]。因此，针对 HIRI 过程中炎症反应与细胞凋亡的调控已成为减轻肝损伤的重要策略^[37–38]。

槐角作为传统中药，富含异黄酮、黄烷酮及三萜类等活性成分，具有抗炎、抗氧化及细胞保护作用^[39]。其中的主要活性成分 SOP 已被报道可通过抑制 COX-2 活性^[19]、阻断 NF- κ B 信号通路^[20]、缓解肥大细胞介导的过敏反应^[17]等发挥抗炎效应。本研究系统评估了 SOP 在 HIRI 中的作用，结果显示 SOP 在体内外均能显著缓解缺血再灌注导致的肝细胞损伤。体外模型中，SOP 减轻了小鼠原代肝细胞在 H/R 刺激下的活性下降，抑制炎

性因子释放及细胞凋亡；小鼠体内模型结果显示，SOP 可显著减轻肝组织坏死、炎性细胞浸润及转氨酶升高，表明其具有明确的肝保护作用。

值得注意的是，转录组学分析结果表明 AMPK 信号通路在 SOP 干预 HIRI 模型中显著富集。AMPK 作为细胞能量稳态的关键调控因子，已被证实维持肝脏代谢平衡及抗氧化应激中发挥重要保护作用^[40–41]。本研究发现，SOP 能显著促进 AMPK 的磷酸化，而 AMPK 特异性抑制剂 CC 可完全逆转 SOP 的保护作用，提示 AMPK 的激活是 SOP 缓解 HIRI 的关键环节。此外，分子对接结果显示 SOP 可与 AMPK 蛋白形成稳定结合，为其直接或间接激活 AMPK 提供了结构学依据。

综上所述，本研究首次系统揭示了 SOP 在缓解肝脏缺血再灌注损伤中的显著保护作用，并证实其核心机制依赖于 AMPK 信号通路的激活。具体而言，SOP 通过激活 AMPK 有效信号通路抑制炎症反应与细胞凋亡，维持肝细胞能量稳态，进而减轻组织损伤。该研究为天然产物在 HIRI 防治中的应用提供了新的理论依据，也为基于“SOP-AMPK”信号轴的药物开发提供了潜在方向。然而，本研究仍具有一定局限性，SOP 促进 AMPK 活化的上游调控机制及其与 NF- κ B、MAPK 等信号通路的交互仍需进一步研究，以全面阐明其作用网络。

本研究表明，SOP 能够显著缓解肝脏炎症反应、抑制细胞凋亡，并有效预防肝脏 I/R 所致的肝损伤。其肝脏保护作用主要通过激活 AMPK 信号通路实现，该发现为靶向调控 AMPK 通路以减轻肝脏缺血再灌注损伤的后续研究提供了重要理论依据。

利益冲突声明：作者声明本研究不存在任何经济或非经济利益冲突。

参考文献

- Konishi T, Lentsch AB. Hepatic ischemia/reperfusion: mechanisms of tissue injury, repair, and regeneration[J]. Gene Expr, 2017, 17(4): 277–287. DOI: 10.3727/105221617X1504275 0874156.
- Izushi K, Tsung A, Hossain MA, et al. Ischemic preconditioning of the murine liver protects through the Akt kinase pathway[J]. Hepatology, 2006, 44(3): 573–580. DOI: 10.1002/hep.21298.
- Kuboki S, Shin T, Huber N, et al. Peroxisome proliferator-

- activated receptor-gamma protects against hepatic ischemia/reperfusion injury in mice[J]. Hepatology, 2008, 47(1): 215–224. DOI: [10.1002/hep.21963](https://doi.org/10.1002/hep.21963).
- 4 Zhang R, Zhang L, Manaenko A, et al. Helium preconditioning protects mouse liver against ischemia and reperfusion injury through the PI3K/Akt pathway[J]. J Hepatol, 2014, 61(5): 1048–1055. DOI: [10.1016/j.jhep.2014.06.020](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.06.020).
- 5 Zhang XJ, Cheng X, Yan ZZ, et al. An ALOX12–12–HETE–GPR31 signaling axis is a key mediator of hepatic ischemia–reperfusion injury[J]. Nat Med, 2018, 24(1): 73–83. DOI: [10.1038/nm.4451](https://doi.org/10.1038/nm.4451).
- 6 Abu-Amara M, Yang SY, Tapuria N, et al. Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks—a review[J]. Liver Transpl, 2010, 16(9): 1016–1032. DOI: [10.1002/ltx.22117](https://doi.org/10.1002/ltx.22117).
- 7 Shen X, Reng F, Gao F, et al. Alloimmune activation enhances innate tissue inflammation/injury in a mouse model of liver ischemia/reperfusion injury[J]. Am J Transplant, 2010, 10(8): 1729–1737. DOI: [10.1111/j.1600-6143.2010.03205.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2010.03205.x).
- 8 Barone S, Okaya T, Rudich S, et al. Distinct and sequential upregulation of genes regulating cell growth and cell cycle progression during hepatic ischemia–reperfusion injury[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2005, 289(4): C826–C835. DOI: [10.1152/ajpcell.00629.2004](https://doi.org/10.1152/ajpcell.00629.2004).
- 9 Jaeschke H, Woolbright BL. Current strategies to minimize hepatic ischemia–reperfusion injury by targeting reactive oxygen species[J]. Transplant Rev (Orlando), 2012, 26(2): 103–114. DOI: [10.1016/j.trre.2011.10.006](https://doi.org/10.1016/j.trre.2011.10.006).
- 10 Cai J, Chen X, Liu X, et al. AMPK: the key to ischemia–reperfusion injury[J]. J Cell Physiol, 2022, 237(11): 4079–4096. DOI: [10.1002/jcp.30875](https://doi.org/10.1002/jcp.30875).
- 11 Li J, Li J, Fang H, et al. Isolongifolene alleviates liver ischemia/reperfusion injury by regulating AMPK–PGC1 α signaling pathway–mediated inflammation, apoptosis, and oxidative stress[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 113(Pt A): 109185. DOI: [10.1016/j.intimp.2022.109185](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109185).
- 12 Kola B. Role of AMP–activated protein kinase in the control of appetite[J]. J Neuroendocrinol, 2008, 20(7): 942–951. DOI: [10.1111/j.1365-2826.2008.01745.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01745.x).
- 13 Bejaoui M, Zaouali MA, Folch-Puy E, et al. Bortezomib enhances fatty liver preservation in Institut George Lopez–1 solution through adenosine monophosphate activated protein kinase and Akt/mTOR pathways[J]. J Pharm Pharmacol, 2014, 66(1): 62–72. DOI: [10.1111/jphp.12154](https://doi.org/10.1111/jphp.12154).
- 14 Chen K, Li G, Geng F, et al. Berberine reduces ischemia–reperfusion–induced myocardial apoptosis via activating AMPK and PI3K–Akt signaling in diabetic rats[J]. Apoptosis, 2014, 19(6): 946–957. DOI: [10.1007/s10495-014-0977-0](https://doi.org/10.1007/s10495-014-0977-0).
- 15 Kataoka Y, Shibata R, Ohashi K, et al. Omentin prevents myocardial ischemic injury through AMP–activated protein kinase–and Akt–dependent mechanisms[J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 63(24): 2722–2733. DOI: [10.1016/j.jacc.2014.03.032](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.03.032).
- 16 Zheng L, Ling W, Zhu D, et al. Roquin–1 regulates macrophage immune response and participates in hepatic ischemia–reperfusion injury[J]. J Immunol, 2020, 204(5): 1322–1333. DOI: [10.4049/jimmunol.1900053](https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900053).
- 17 杨尚明, 雷杰, 陈鹏, 等. 药物治疗在肝切除术中预防缺血再灌注损伤的研究进展 [J]. 数理医药学杂志, 2024, 37(6): 446–452. [Yang SM, Lei J, Chen P, et al. Progress of pharmacotherapy in the prevention of ischemia–reperfusion injury during hepatectomy[J]. Journal of Mathematical Medicine, 2024, 37(6): 446–452.] DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202401019](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202401019).
- 18 Kim SJ, Lee GY, Jung JW, et al. The ameliorative effect of sophoricoside on mast cell–mediated allergic inflammation in vivo and in vitro[J]. Molecules, 2013, 18(5): 6113–6127. DOI: [10.3390/molecules18056113](https://doi.org/10.3390/molecules18056113).
- 19 Kim BH, Lee S. Sophoricoside from *Styphnolobium japonicum* improves experimental atopic dermatitis in mice[J]. Phytomedicine, 2021, 82: 153463. DOI: [10.1016/j.phymed.2021.153463](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153463).
- 20 Kim BH, Chung EY, Ryu JC, et al. Anti–inflammatory mode of isoflavone glycoside sophoricoside by inhibition of interleukin–6 and cyclooxygenase–2 in inflammatory response[J]. Arch Pharm Res, 2003, 26(4): 306–311. DOI: [10.1007/BF02976960](https://doi.org/10.1007/BF02976960).
- 21 Wu YX, Zeng S, Wan BB, et al. Sophoricoside attenuates lipopolysaccharide–induced acute lung injury by activating the AMPK/Nrf2 signaling axis[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 90: 107187. DOI: [10.1016/j.intimp.2020.107187](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107187).
- 22 Aaron SL, DeBlois KW. Acute necrotizing ulcerative gingivitis[M]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.
- 23 Chen Y, Lei Y, Wang H, et al. Sophoricoside attenuates autoimmune–mediated liver injury through the regulation of oxidative stress and the NF–κB signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2023, 52(3): 78. DOI: [10.3892/ijmm.2023.5281](https://doi.org/10.3892/ijmm.2023.5281).
- 24 Li W, Lu Y. Hepatoprotective effects of sophoricoside against fructose–induced liver injury via regulating lipid metabolism, oxidation, and inflammation in mice[J]. J Food Sci, 2018, 83(2): 552–558. DOI: [10.1111/1750-3841.14047](https://doi.org/10.1111/1750-3841.14047).
- 25 Kim BH, Lee S. Sophoricoside from *Styphnolobium japonicum* improves experimental atopic dermatitis in mice[J]. Phytomedicine, 2021, 82: 153463. DOI: [10.1016/j.phymed.2021.153463](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153463).
- 26 Wu Y, He S, Zhang Y, et al. Sophoricoside ameliorates methicillin–resistant *Staphylococcus aureus*–induced acute lung injury by inhibiting Bach1/Akt pathway[J]. Phytomedicine, 2024, 132: 155846. DOI: [10.1016/j.phymed.2024.155846](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155846).
- 27 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, et al. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia–reperfusion[J]. J Exp Med, 2005, 201(7): 1135–1143. DOI: [10.1084/jem.20042614](https://doi.org/10.1084/jem.20042614).
- 28 Tao Q, Tianyu W, Jiangqiao Z, et al. Tripartite motif 8 deficiency relieves hepatic ischaemia/reperfusion injury via TAK1–dependent signalling pathways[J]. Int J Biol Sci, 2019, 15(8): 1618–1629. DOI: [10.7150/ijbs.33323](https://doi.org/10.7150/ijbs.33323).
- 29 Gurusamy KS, Kumar Y, Ramamoorthy R, et al. Vascular occlusion for elective liver resections[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2009(1): CD007530. DOI: [10.1002/14651858.CD007530](https://doi.org/10.1002/14651858.CD007530).

- 30 Hammond JS, Guha IN, Beckingham IJ, et al. Prediction, prevention and management of postresection liver failure[J]. Br J Surg, 2011, 98(9): 1188–1200. DOI: [10.1002/bjs.7630](https://doi.org/10.1002/bjs.7630).
- 31 Calabrese MF, Rajamohan F, Harris MS, et al. Structural basis for AMPK activation: natural and synthetic ligands regulate kinase activity from opposite poles by different molecular mechanisms[J]. Structure, 2014, 22(8): 1161–1172. DOI: [10.1016/j.str.2014.06.009](https://doi.org/10.1016/j.str.2014.06.009).
- 32 He X, Bai Y, Zhao Z, et al. Local and traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Sophora japonica* L.: a review[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 187: 160–182. DOI: [10.1016/j.jep.2016.04.014](https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.014).
- 33 Wang PX, Zhang R, Huang L, et al. Interferon regulatory factor 9 is a key mediator of hepatic ischemia/reperfusion injury[J]. J Hepatol, 2015, 62(1): 111–120. DOI: [10.1016/j.jhep.2014.08.022](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.08.022).
- 34 Zhou J, Guo L, Ma T, et al. *N*-acetylgalactosaminyltransferase-4 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by blocking apoptosis signal-regulating kinase 1 N-terminal dimerization[J]. Hepatology, 2022, 75(6): 1446–1460. DOI: [10.1002/hep.32202](https://doi.org/10.1002/hep.32202).
- 35 Dickson I. Improving hepatic ischaemia–reperfusion injury outcomes[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(10): 583. DOI: [10.1038/s41575-019-0194-y](https://doi.org/10.1038/s41575-019-0194-y).
- 36 Wang S, Li S, Liu Q, et al. The OsSPL16–GW7 regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality[J]. Nat Genet, 2015, 47(8): 949–954. DOI: [10.1038/ng.3352](https://doi.org/10.1038/ng.3352).
- 37 Sun P, Zhang P, Wang PX, et al. Mindin deficiency protects the liver against ischemia/reperfusion injury[J]. J Hepatol, 2015, 63(5): 1198–1211. DOI: [10.1016/j.jhep.2015.06.033](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.06.033).
- 38 Wang X, Mao W, Fang C, et al. Dusp14 protects against hepatic ischaemia–reperfusion injury via Tak1 suppression[J]. J Hepatol, 2017, 67(3): 8278–8278(17)32275–4. DOI: [10.1016/j.jhep.2017.08.032](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.08.032).
- 39 Zhou J, Hu M, He M, et al. TNFAIP3 interacting protein 3 is an activator of hippo–YAP signaling protecting against hepatic ischemia/reperfusion injury[J]. Hepatology, 2021, 74(4): 2133–2153. DOI: [10.1002/hep.32015](https://doi.org/10.1002/hep.32015).
- 40 Kadono K, Kageyama S, Nakamura K, et al. Myeloid ikaros–SIRT1 signaling axis regulates hepatic inflammation and pyroptosis in ischemia–stressed mouse and human liver[J]. J Hepatol, 2022, 76(4): 896–909. DOI: [10.1016/j.jhep.2021.11.026](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.11.026).
- 41 Pu JL, Huang ZT, Luo YH, et al. Fisetin mitigates hepatic ischemia–reperfusion injury by regulating GSK3 β /AMPK/NLRP3 inflammasome pathway[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2021, 20(4): 352–360. DOI: [10.1016/j.hbpd.2021.04.013](https://doi.org/10.1016/j.hbpd.2021.04.013).

收稿日期：2025年08月19日 修回日期：2025年12月09日

本文编辑：冼静怡 周璐敏