

· 专题:双清论坛“用现代科学解读中医药学原理”·

基于“三因致毒”假说的中药免疫特异质肝损伤成因机制解析*

李春雨¹ 李国辉^{1**} 肖小河^{2**}

1. 国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院,北京 100021
2. 中国人民解放军总医院 第五医学中心/肝病医学部,北京 100039

[摘要] 特异质药物性肝损伤(Idiosyncratic Drug-induced Liver Injury, IDILI)具有不可预测性和发病率低等特点,一直是新药撤市遇到的瓶颈问题。IDILI 发生与机体、环境和药物密切相关,而机体免疫是 IDILI 发生的主要诱因,故免疫 IDILI 备受关注。囿于中草药组成和临床用药的复杂性,中药相关特异质肝损伤物质基础和机制的阐释成为研究的难点和热点。课题组前期针对何首乌肝损伤特点,提出了“三因致毒”机制假说,为中药免疫特异质肝损伤的评价和机制研究提供新的思路和方法。因此,本文基于“三因致毒”假说科学内涵,以仙灵骨葆为例,通过文献报道、临床回顾性分析及实验室研究,明确免疫应激可能是其特异质肝损伤的重要诱因;借助免疫应激模型,明确了其肝损伤的物质基础,并区分了成分类型;利用代谢组学技术初步探讨了其机制。结果表明,该假说能够解析其免疫特异质肝损伤的成因机制,具有一定的普适性,可为科学评价中药免疫特异质肝损伤风险防控提供研究思路和科学依据。

[关键词] “三因致毒”假说;中药免疫特异质肝损伤;免疫应激;仙灵骨葆;物质基础

特异质药物性肝损伤(Idiosyncratic Drug-induced Liver Injury, IDILI)发生率较低,与用药剂量和时间无关,不可预测,严重者可致命,是导致许多上市药物撤市的主要原因之一^[1]。目前关于 IDILI 并没有明确定义,其发生与药物剂量、时间和服用方式无明确对应关系,但却与年龄、性别、基础



肖小河 解放军总医院第五医学中心研究员,解放军总医院肝病医学部学术主任,全军中医药研究所所长,专业技术少将。主要从事中药安全性与精准用药研究。以第一完成人获国家科技进步奖二等奖 2 项,领衔研制国际国内指南 6 部。主持获得国家新药临床批文 4 个、国家新药证书 1 个。获中国及国际专利授权 45 项,以第一或通讯作者在 *Hepatology*、《科学通报》等权威刊物发表论文 500 余篇,总被引 25 000 余篇次,入选“中国高被引学者”“全球前 2% 顶尖科学家”等。



李国辉 中国医学科学院肿瘤医院主任药师,药剂科主任,硕士研究生导师,主要从事临床药学及药物相互作用研究。承担国家及省部级等项目 10 余项,作为主编、副主编撰写书籍 10 余部,牵头制定 9 个指南、规范及共识,兼任《中国医院用药评价与分析》副主编,荣获“国之名医—卓越建树”称号。



李春雨 中国医学科学院肿瘤医院药剂科副主任药师,硕士研究生导师。主要从事中药安全性/中医药防治抗肿瘤药物不良反应研究,承担国家自然科学基金项目、中国博士后科学基金等科研项目,发表学术论文 40 余篇,曾入选中国百篇最具影响国内学术论文及“领跑者 5000”中国精品期刊顶尖学术论文(F5000)。

疾病、免疫炎症、基因等机体状态存在某种或多种对应关系^[2]。因此, IDILI 发生机制一直是毒理科学家

收稿日期:2024-01-22;修回日期:2024-03-06

* 本文根据国家自然科学基金委员会第 331 期“双清论坛”讨论的内容整理。

** 通信作者,Email: lgh0603@cicams.ac.cn; pharmacy302xxh@126.com

本文受到国家自然科学基金项目(82174071)的资助。

们研究的难点和痛点。随着科学的不断进步,关于 IDILI 机制研究也取得了一定进展。目前研究表明,机体免疫是 IDILI 发生的主要诱因,已形成了几种学术界公认的 IDILI 机制假说,包括:免疫炎症假说、免疫药理效应假说、免疫稳态失衡假说、半抗原假说、基因多态性假说和危险因子假说^[3]。因此,免疫 IDILI 备受关注。

中药在我国临床应用具有上千年的历史,在战胜人类疾病方面发挥了举足轻重的作用。然而,随着中草药及相关产品在世界范围内的普及应用,中草药相关肝损伤的报道呈逐年上升趋势,引起业内外外的广泛关注。由于中药成分复杂且多为复方配伍,加之特异体质的个体差异等诸多风险因素,导致中药相关特异质肝损伤机制及物质基础难以阐明,从而使其风险防控面临巨大挑战。本研究团队前期充分考虑了药物因素、机体免疫因素以及用药环境对中药肝损伤易感性的影响,针对何首乌肝损伤特点,提出了中药免疫特异质肝损伤“三因致毒”机制假说,该假说紧密结合中药临床肝损伤的发生特点和风险因素,改变了长期以来中草药安全性研究“唯药物成分论毒性”的传统模式,为特异质毒性的评价和机制研究提供新的策略和方法^[4]。

为此,本文以国家食品药品监督管理局通报的仙灵骨葆为例,基于“三因制毒”假说科学内涵解析其肝损伤的物质基础和作用机制,以期符合“三因致毒”假说科学内涵的中药免疫特异质肝损伤成因机制研究提供研究思路和方法,从而促进中医药事业健康可持续发展。

1 “三因致毒”假说的提出及科学内涵

本研究团队前期临床流行病学调研结果发现,白发病、湿疹、白癜风、骨关节病、银屑病、系统性红斑狼疮等与免疫相关的基础性疾病的患者服用何首乌出现肝损伤的几率相对较高,这些患者往往伴随免疫应激和炎症因子升高,提示具有这些基础疾病的患者体质可能属于免疫应激状态。结合免疫因素在药物特异质肝损伤中的重要影响作用,提示免疫应激可能是何首乌特异质肝损伤的重要诱因之一。因此,采用国际上广泛认可的 LPS (Lipopolysaccharides) 介导免疫应激动物模型,成功评价了何首乌特异质肝损伤客观真实性,同时揭示了何首乌肝损伤易感成分、免疫因素和作用机制。在此基础上,首次提出了中药免疫特异质肝损伤“三因致毒”机制假说^[5]:当机体处于免疫应激状态时

(影响因素 1),中药中免疫促进物质(影响因素 2)能进一步加剧机体免疫反应,此时肝脏对肝损伤易感物质(影响因素 3)的敏感性增强,从而诱发免疫特异质肝损伤。因此,“三因致毒”机制假说的科学内涵为中药免疫特异质肝损伤发生应同时具备三个条件:机体免疫应激状态、免疫促进物质和潜在肝损伤易感物质。

目前该假说在含何首乌、补骨脂、淫羊藿、白鲜皮等系列相关制剂的肝损伤成因机制研究得到验证^[4]。“三因致毒”机制假说为中药特异质肝损伤评价模式的建立和发展提供了坚实的理论基础^[6],同时也为仙灵骨葆特异质肝损伤机制研究提供了参考依据和方法。

2 基于“三因致毒”假说的中药免疫特异质肝损伤成因机制实例解析

2.1 仙灵骨葆致肝损伤的概况和存在问题

仙灵骨葆口服制剂是在苗族民间验方的基础上,采用现代制药技术研制而成的新型民族药,主要包括仙灵骨葆胶囊和仙灵骨葆片,具有滋补肝肾、活血通络、强筋壮骨等功效,现临床主要治疗骨质疏松、骨折、骨关节炎、骨无菌性坏死等。作为国家基本药物^[7],仙灵骨葆在我国应用已有 20 余年的历史,疗效确切。长期毒理学实验和临床试验都证实了仙灵骨葆治疗骨质疏松症的安全性和有效性^[8-10]。仙灵骨葆的处方组成为淫羊藿、补骨脂、续断、知母、地黄和丹参,没有传统意义上的毒性中药。近年来,有关仙灵骨葆肝损伤不良反应报道不断增多,其中不乏重度肝损伤和急性肝损伤病例^[11, 12]。2004 年 01 月 01 日至 2016 年 07 月 21 日,国家药品不良反应监测数据库中共收到仙灵骨葆口服制剂不良反应报告 2 665 例,其中严重报告 81 例(3.1%)。在严重不良反应报告中,肝胆系统损害所占比例最高。2016 年 12 月,国家食品药品监督管理局发布了第七十二期《药品不良反应信息通报》,提示关注仙灵骨葆引起的肝损伤不良反应。

文献也陆续报道了关于仙灵骨葆肝损伤研究。有研究表明仙灵骨葆肝损伤作用机制可能是免疫刺激剂间接抑制 FXR(Farnesoid X Receptor)的调节作用与仙灵骨葆诱导 CYP7A1 的表达共同作用的结果,建议临床用药时应尽量避免与能够影响胆汁酸代谢药物联用^[13]。丁雁南等^[14]的研究结果表明连续给予小鼠 27 周仙灵骨葆引起以肝组织炎细胞浸润为特征的肝损伤。蔺红伟等^[15]从细胞水平考察

了仙灵骨葆同方提取物的肝细胞毒性,结果表明仙灵骨葆处方中的肝毒性成分主要为淫羊藿和补骨脂提取物。有学者通过查阅 1994 至 2022 年国内外仙灵骨葆肝毒性相关文献,结论为仙灵骨葆胶囊的毒性成分主要是补骨脂和淫羊藿。有研究^[16]通过网络毒理学分析淫羊藿和补骨脂配伍的潜在肝毒性成分及机制,结果显示淫羊藿中淫羊藿素、淫羊藿次苷 I 及补骨脂中补骨脂二氢黄酮、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂乙素、补骨脂酚是关键潜在肝毒性成分,两药配伍后可能通过 EGFR、HSP90AA1、ERBB2、PTGS2、EP300、PPARG 等核心靶点加重肝损伤。

虽然目前仙灵骨葆肝损伤的研究已经取得一定进展,但关于其肝损伤机制及物质基础仍不明确,是亟待解决的难点问题。

2.2 仙灵骨葆肝损伤属于特异质型

本研究团队前期采用“整合证据链法”^[17]对中国期刊网中的文献、国家不良反应中心及鄞州社区的仙灵骨葆肝损伤病例进行回顾性分析,结果表明文献检索到的仙灵骨葆肝损伤病例多数报告信息不完整,难以准确判断其因果关系。2012 至 2016 年国家不良反应中心共收集到药物肝损伤病例 55 388 例,仙灵骨葆相关肝损伤病例共 63 例,其中单独使用仙灵骨葆造成肝损伤的有 36 例,这些患者服用药物剂量都在说明书使用范围之内,肝损伤不呈剂量或时间依赖关系,且所占比率较低,仅为 0.06% (36/55 388)^[18, 19];2009 至 2017 年期间,基于鄞州社区全人群健康大数据检索出仙灵骨葆相关肝损伤病例进行再评价,合并同一病例,删除重复病例,筛选得到服用仙灵骨葆后发生肝功能异常并被诊断为“药物性肝损伤”或“药物性肝炎”的病例。结果服用过仙灵骨葆的病例总数为 149 838 例,其中发生肝功能异常并被诊断为“药物性肝损伤”和“药物性肝炎”的有 50 例,估算其粗发生率为 0.034% (95% CI, 0.025% ~ 0.043%)。参照国际医学科学组织理事会 (Council for International Organizations of Medical Sciences, CIOMS) 对不良反应发生率的风险分级:属于罕见水平 (0.01% ~ 0.1%, 含 0.01%), 具有显著的个体差异和特异质属性^[19],提示绝大多数的人服用仙灵骨葆是安全的,仙灵骨葆可能在极少数易感个体引起特异质肝损伤。

本研究团队还发现仙灵骨葆的主要功效为滋补肝肾,活血通络,强筋健骨,那么按照处方组成和中医用药理论,应该用于肝肾不足为主的虚痹。但是,临床上使用过程中可能会出现药不对症的情况,如

类风湿关节炎患者,治则宜祛风通络、散寒除湿;若使用仙灵骨葆治疗,由于该处方中的淫羊藿和补骨脂具有补肝肾的功效,可以增强机体免疫^[20, 21]。在机体免疫应激的条件下,则会促进该类患者机体免疫的异常活化,那么肝损伤发生的风险会大幅增加,提示免疫应激可能是仙灵骨葆导致特异质肝损伤的重要诱因。因此,本研究团队采用前期制备的中药特异质肝损伤动物模型进行评价,结果发现仙灵骨葆对正常大鼠无肝损伤作用,但在中药特异质肝损伤模型上则出现明显的肝损伤,该结果提示仙灵骨葆相关肝损伤具有特异质属性^[18]。

综上可知,仙灵骨葆导致肝损伤现象客观存在,并且具有特异质属性,推测炎症介导的免疫应激可能是仙灵骨葆特异质肝损伤的重要诱因。但是,炎症介导的免疫应激如何在仙灵骨葆特异质肝损伤中发挥作用尚不清楚,需要进一步研究。

2.3 TNF- α 诱导的免疫应激可能是仙灵骨葆致特异质肝损伤的重要诱因

前期研究发现^[18],在仙灵骨葆特异质肝损伤组可观察到多中心灶的肝细胞凋亡和大量炎性细胞浸润;非靶向代谢研究结果显示免疫应激介导的代谢紊乱是由多条代谢通路引起的,而鞘脂代谢是其中最重要的通路;Luminex 多因子检测及 ROC 曲线分析结果表明 IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β 等炎性细胞因子和 MCP-1、MIP-2 α 等趋化因子是仙灵骨葆导致特异质肝损伤的潜在易感细胞因子 ($P < 0.05$),其中 TNF- α 是最显著的易感因子。前期筛查何首乌肝损伤人群的易感因素结果也表明 TNF- α 是何首乌特异质肝损伤的易感因素^[22]。上述结果提示 TNF- α 诱导的免疫应激可能是仙灵骨葆致特异质肝损伤的重要诱因。

TNF- α 是评价药物特异质肝损伤的关键免疫因素,它能够协同临床上可以导致特异质肝损伤的药物,如双氯芬酸钠、溴芬酸、曲伐沙星和异烟肼等,产生肝损伤现象。因此,借助 TNF- α 诱导的免疫应激可以评价上述药物的特异质肝损伤^[23]。特异质肝损伤免疫学机制研究表明,TNF- α 与非甾体抗炎类药物(如双氯芬酸钠)协同作用,激活 TNF- α 介导 MAPK/NF- κ B 信号通路导致大量炎性细胞因子分泌,造成肝脏免疫微环境处于失衡状态,诱导肝细胞凋亡^[24]。

2.4 免疫促进肝损伤成分和肝损伤易感成分存在可能是仙灵骨葆中致特异质肝损伤的重要物质基础

本研究团队前期对仙灵骨葆进行了拆方研究,

结果表明在免疫应激条件下,处方中淫羊藿和补骨脂均可导致肝损伤,且两者配伍肝损伤程度比单独应用时更为严重^[25],具有相反的配伍特点,且严重程度比全方要强,提示方中另外4味药(续断、知母、地黄、丹参)与二者配伍应用,可以起到配伍减毒的作用;将这4味药分别与二者进行配伍,结果表明4味药均有减轻二者所致肝损伤作用,其中丹参的配伍减毒效果最好^[19]。前期研究还发现与免疫应激组比较,淫羊藿联合补骨脂组的血浆中TNF- α 、IL-1 β 和IFN- γ 的表达水平均显著增加^[25],提示淫羊藿配伍补骨脂可以激活机体免疫,推测二者可能是导致仙灵骨葆特异质肝损伤的主要药味。

为了进一步阐释补骨脂配伍淫羊藿导致特异质肝损伤的物质基础,我们建立了一种中药相关特异质肝损伤成分体外评价方法^[26],对淫羊藿和补骨脂中肝损伤成分和免疫促进肝损伤成分进行了筛选,并且对淫羊藿和补骨脂配伍后免疫促进肝损伤成分和肝损伤易感成分之间的协同关系也进行了研究,结果见图1。从图中可以看出,特异质肝损伤易感成分为补骨脂甲素和新补骨脂异黄酮,两个成分表现特点是对正常细胞无毒,但是在TNF- α 介导免疫应激条件下有明显的细胞毒性作用;特异质免疫促进肝损伤成分为淫羊藿中的淫羊藿苷、淫羊藿素、淫羊藿次苷I、淫羊藿次苷II、朝藿定A、朝藿定B、朝藿定A1、朝藿定C、脱水淫羊藿素和淫羊藿苷A,补骨脂中新补骨脂异黄酮、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂定和异补骨脂二氢黄酮,这些成分表现特点为在

TNF- α 诱导免疫应激条件下对细胞无毒性作用,但能够协同增加补骨脂甲素的细胞毒性作用。然而,在TNF- α 诱导的免疫应激条件下,特异质免疫促进肝损伤成分协同肝损伤易感成分导致特异质肝损伤的作用机制是什么?目前尚不清楚。

2.5 仙灵骨葆“三因致毒”假说的提出和验证

基于上述“三因致毒”假说的内涵,考虑到机体免疫因素、仙灵骨葆中免疫促进肝损伤成分和肝损伤易感成分在仙灵骨葆特异质肝损伤中的作用,我们提出仙灵骨葆致特异质肝损伤“三因致毒”机制假说(见图2):TNF- α 介导的免疫应激(影响因素1)、免疫促进肝损伤成分朝藿定B或淫羊藿苷(影响因素2)和肝损伤易感成分补骨脂甲素(影响因素3)协同作用,从而导致仙灵骨葆特异质肝损伤。

随后我们通过体内外实验验证了上述假说^[27-29]。细胞实验结果显示,朝藿定B或淫羊藿苷和补骨脂甲素对正常状态细胞均无明显毒性作用,但在TNF- α 刺激下,与单独用药比较,朝藿定B或淫羊藿苷和补骨脂甲素联合给药对肝细胞毒性作用明显增强;协同毒性指数计算结果表明朝藿定B或淫羊藿苷和补骨脂甲素具协同增加肝细胞毒性作用。动物实验结果表明,朝藿定B或淫羊藿苷和补骨脂甲素对正常小鼠血浆中谷草转氨酶(Aspartate Aminotransferase, AST)及谷丙转氨酶(Alanine Aminotransferase, ALT)含量及肝脏病理学变化无明显影响;但在TNF- α 介导的免疫应激模型上,与

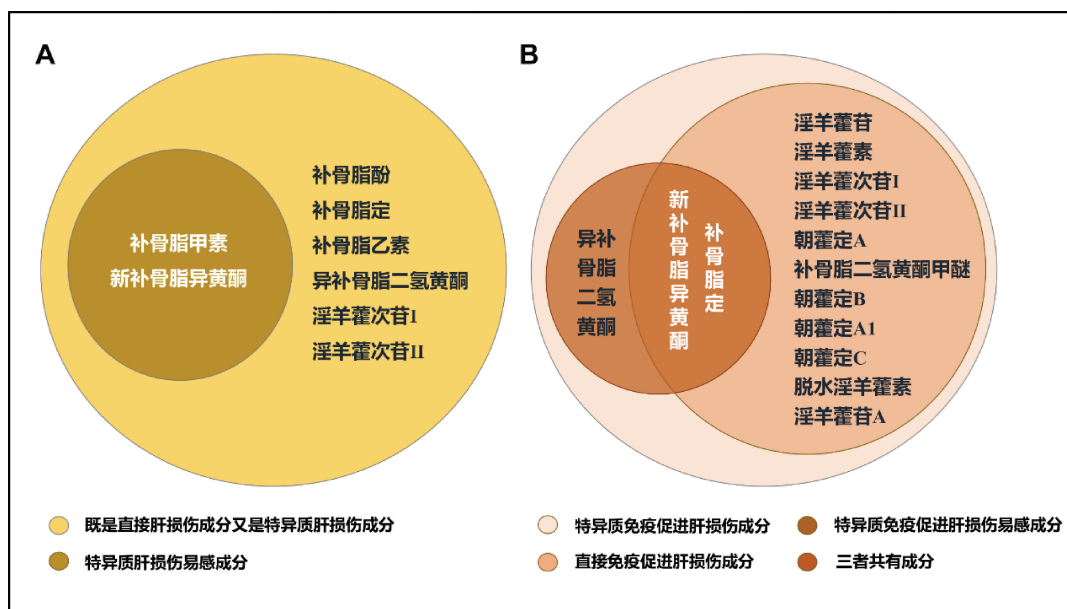


图1 淫羊藿和补骨脂中肝损伤成分(A)和免疫促进肝损伤成分(B)示意图

单独用药比较,朝藿定 B 或淫羊藿苷和补骨脂甲素联合给药对肝脏组织的损伤程度显著增加,且肝脏组织病理学也显示了类似的结果。

拟靶向代谢组学结果显示,烟酸和烟酰胺代谢及亚油酸代谢通路可能是补骨脂甲素联合朝藿定 B 诱导特异质肝损伤的关键代谢通路,而甘油磷脂、花生四烯酸和亚油酸代谢可能是补骨脂甲素联合淫羊藿苷诱导特异质肝损伤的关键代谢通路,上述结果提示两成分导致机体代谢扰动可能是二者协同导致特异质性药物性肝损伤的重要代谢机制。

烟酸和烟酰胺代谢可调节免疫功能和炎症^[30]。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)是烟酸盐及烟酰胺代谢的核心,烟酰胺磷酸核糖基转移酶(NAMPT)对于维持细胞 NAD⁺供应至关重要,是催化 NAD 补救途径的限速步骤酶。NAMPT 表达显著上调,并抵消由 NAD⁺消耗酶介导的细胞 NAD⁺周转增加,构成了炎症、代谢和转录途径与 NAD⁺代谢之间的重要机制联系^[31]。NAMPT 调节氧化应激,其表达下调可减弱抗氧化和抗坏死功能,导致肝脏对药物(如对乙酰氨基酚)敏感性增强,出现线粒体谷胱甘肽严重耗竭、线粒体功能严重受损,最终出现急性肝损伤^[32]。甘油磷脂是细胞膜完整性和能量储存的重要结构单位,参与炎症、免疫反

应和肝纤维化等多种细胞信号传导过程。研究表明甘油代谢紊乱导致大量脂肪酸的积累是药物肝损伤的重要原因^[33]。脂肪酸是脂质的重要组成部分,在体内具有多种生理功能,脂肪酸代谢异常与炎症密切相关。亚油酸和花生四烯酸都属于多不饱和脂肪酸,具有较高的生物活性。肝脏中花生四烯酸代谢和亚油酸代谢紊乱与肝损伤密切相关^[34]。花生四烯酸参与甘油磷脂代谢并在促炎信号转导中起作用,花生四烯酸代谢激活使代谢产物增加,导致炎症介质代谢紊乱,并引起肝组织中炎症细胞的浸润和活化,过度产生的代谢产物还可能导致氧化应激增加,引发肝细胞损伤和脂质过氧化,从而进一步加重肝损伤^[35]。在何首乌和白鲜碱导致 IDILI 研究中也观察到花生四烯酸和亚油酸代谢紊乱^[36, 37]。

然而,两成分如何通过调控相关代谢通路上的关键靶点和代谢物诱导特异质肝损伤,两成分角色作用是什么?如何结合临床规避上述风险?目前正在深入研究。

3 结语和展望

传统毒剧类中药毒副作用和机制较明确,临床较易规避和控制风险;而传统“无毒”中药由于损伤仅发生在少数特异体质的易感人群,其风险往往易

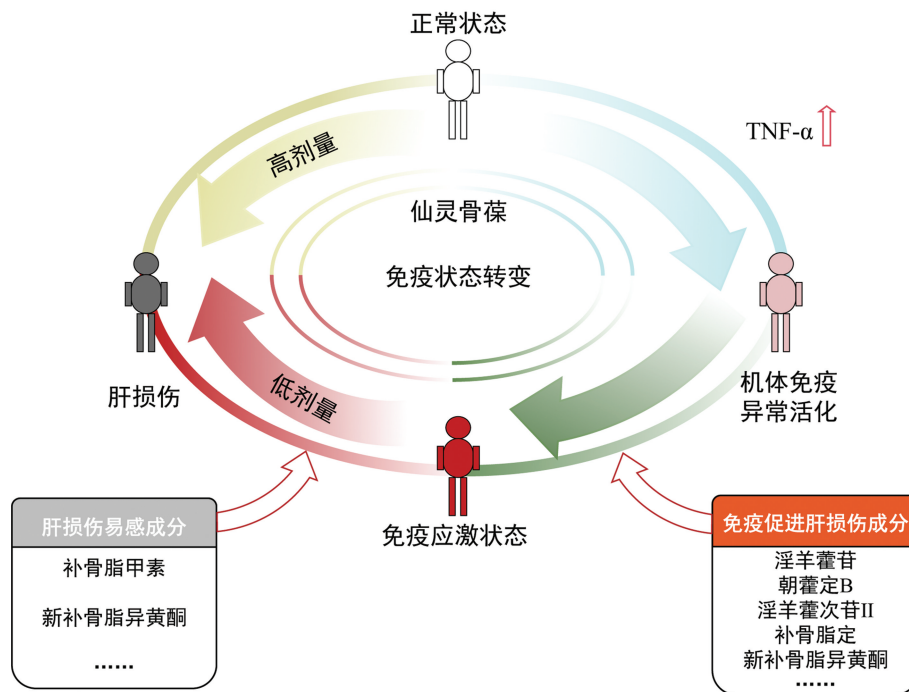


图 2 仙灵骨葆特异质肝损伤“三因致毒”机制示意图

被忽视,正所谓“明枪易躲,暗箭难防”。揭示中药特异质肝损伤的易感成分和机制,一直是中药安全性研究的热点和难点。受限于研究思路和技术手段,中药特异质肝损伤研究领域尚缺乏共性的研究理论和方法。在前期研究中,本研究团队主要从机体病证状态的角度探讨了中药肝损伤的个体差异即易感性问题,特别是针对何首乌的研究,我们发现了机体免疫因素对何首乌肝损伤易感性增强的影响规律、易感物质及初步机制,据此提出了中药特异质肝损伤“三因致毒”机制的科学假说,从机体和药物多风险因素协同致毒的角度,解释了何首乌肝损伤的易感性问题。除了何首乌之外,其他一些传统“无毒”中药如淫羊藿、补骨脂及其制剂如壮骨关节丸、仙灵骨葆、骨康胶囊等致肝损伤的问题也颇有报道。为此,该研究以“三因致毒”假说为出发点,将其应用于中药复方制剂(仙灵骨葆)研究,进一步检验和论证中药特异质肝损伤的共性科学规律,完善科学假说和评价理论,以期创新和发展中药特异质肝损伤的评价理论和方法体系。

影响仙灵骨葆安全用药的风险因素有很多,既有“药”的因素、“人”的因素,也有“用”的因素。对于“药”,应重视中药本身潜在毒性、合格的炮制品、真伪鉴别及外源性毒物的检测(农残、重金属及微生物),建立能够反映毒性大小的饮片质量控制方法和标准,降低药的风险。仙灵骨葆制剂中补骨脂为生品入药,补骨脂炮制方法最早记录于南北朝雷教的《雷公炮炙论》,指出在使用前应先以酒浸水漂法进行前处理来减毒,研究表明酒浸水漂法可有效降低补骨脂的潜在肝毒性^[38]。对于“人”,应重视患者机体免疫状态和代谢酶以及基础疾病的影响,避免特异质肝损伤。对于“用”,应重视辨证用药,避免药不对症;重视剂量和疗程,避免超剂量与超疗程使用。“三因致毒”假说即重视机体免疫状态在肝损伤中的作用,基于该假说的科学内涵,本研究以仙灵骨葆为实例,系统解析了机体免疫状态在中药免疫特异质肝损伤中的作用,提示患者的基础疾病若处于免疫活化状态,要避免使用仙灵骨葆等补益类中药,表明辨证用药的重要性。因此,符合中医药特点“人一药一用”三维中药安全性风险防控体系的建立,有助于实现临床合理用药和精准用药,促进中药产业健康可持续发展。

参 考 文 献

- [1] Segovia-Zafra A, Di Zeo-Sánchez DE, López-Gómez C, et al. Preclinical models of idiosyncratic drug-induced liver injury (iDILI): moving towards prediction. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2021, 11(12): 3685—3726.
- [2] Allison R, Guraka A, Shawa IT, et al. Drug induced liver injury—a 2023 update. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 2023, 26(8): 442—467.
- [3] 柏兆方, 高源, 左晓彬, 等. 免疫调控与特异质型药物性肝损伤发生机制研究进展. *药学报*, 2017, 52(7): 1019—1026.
- [4] 肖小河, 赵旭, 柏兆方, 等. 中药新安全观及实践. *中国中药杂志*, 2023, 48(10): 2557—2564.
- [5] 柏兆方, 孟雅坤, 贺兰芝, 等. 传统无毒中药诱导的免疫特异质型肝损伤及其机制假说. *中国药理学杂志*, 2017, 52(13): 1105—1109.
- [6] 柏兆方, 高源, 王伽伯, 等. 中药特异质肝损伤评价及风险控制对策研究. *药学进展*, 2020, 44(10): 724—729.
- [7] 张黔泉. 仙灵骨葆胶囊列入国家基本药物目录. *经济信息时报*, 2009-10-23(001).
- [8] Cheng YM, Liu YZ, Wang H, et al. A 26-week repeated dose toxicity study of Xian-ling-gu-Bao in Sprague-Dawley rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 145(1): 85—93.
- [9] Wu H, Zhong QX, Wang J, et al. Beneficial effects and toxicity studies of Xian-ling-gu-Bao on bone metabolism in ovariectomized rats. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, 8: 273.
- [10] Li ZR, Cheng LM, Wang KZ, et al. Herbal Fufang Xian Ling Gu Bao prevents corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head—a first multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Orthopaedic Translation*, 2018, 12: 36—44.
- [11] 杜倩, 王哲, 运乃茹, 等. 仙灵骨葆胶囊致不良反应 185 例文献分析. *中国药房*, 2017, 28(27): 3785—3787.
- [12] 李珊, 王秀娟, 庄伟, 等. 39 例仙灵骨葆胶囊不良反应/事件分析. *中国药师*, 2019, 22(6): 1068—1071.
- [13] Wu WX, Wang T, Sun B, et al. Xian-Ling-Gu-Bao induced inflammatory stress rat liver injury: inflammatory and oxidative stress playing important roles. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019, 239: 111910.
- [14] 丁雁南, 马红红, 石富国, 等. 仙灵骨葆单独及与奥美拉唑联合应用的肝毒性研究. *遵义医学院学报*, 2019, 42(3): 265—271.
- [15] 蔺红伟, 江春霞, 陆文铨, 等. 仙灵骨葆同方提取物的肝细胞毒性研究. *药学服务与研究*, 2020, 20(2): 98—101.

- [16] 时潇丽, 杨德超, 徐光前, 等. 含淫羊藿、补骨脂中成药的用药特点分析. 中成药, 2022, 44(8): 2744—2749.
- [17] 肖小河, 柏兆方, 王伽伯, 等. 中药安全性评价与药物警戒. 科学通报, 2021, 66(S1): 407—414.
- [18] Li CY, Niu M, Liu YL, et al. Screening for susceptibility-related factors and biomarkers of xianling gubao capsule-induced liver injury. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 810.
- [19] 黄迎, 刘亚蕾, 马润然, 等. 仙灵骨葆相关肝损伤的临床病例分析及拆方实验研究. 药学学报, 2021, 56(1): 266—273.
- [20] 鲁宇杰, 郭鑫, 李伟, 等. 淫羊藿总黄酮对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响. 新疆医学, 2019, 49(6): 575—577.
- [21] 姜宪辉, 张健, 刘辉. 补骨脂对激发态小鼠的体液免疫影响的实验研究. 辽宁中医学院学报, 2004, 6(2): 116—117.
- [22] Zhang L, Niu M, Wei AW, et al. Risk profiling using metabolomic characteristics for susceptible individuals of drug-induced liver injury caused by *Polygonum multiflorum*. *Archives of Toxicology*, 2020, 94(1): 245—256.
- [23] Maiuri AR, Wassink B, Turkus JD, et al. Synergistic cytotoxicity from drugs and cytokines *in vitro* as an approach to classify drugs according to their potential to cause idiosyncratic hepatotoxicity: a proof-of-concept study. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2017, 362(3): 459—473.
- [24] Giustarini G, Huppelschoten S, Barra M, et al. The hepatotoxic fluoroquinolone trovafloxacin disturbs TNF- and LPS-induced p65 nuclear translocation *in vivo* and *in vitro*. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2020, 391: 114915.
- [25] Gao Y, Wang ZL, Tang JF, et al. New incompatible pair of TCM: Epimedii Folium combined with Psoraleae Fructus induces idiosyncratic hepatotoxicity under immunological stress conditions. *Frontiers of Medicine*, 2020, 14(1): 68—80.
- [26] 李莹滢, 林蒙蒙, 曹波, 等. 一种中药相关特异质肝损伤成分筛选的体外评价方法的建立: 以补骨脂和淫羊藿为例. 药学学报, 2024, 59(03): 621—632.
- [27] 林蒙蒙, 李莹滢, 曹波, 等. 免疫应激介导的朝藿定 B 协同补骨脂甲素导致特异质肝损伤的靶向代谢组学研究. 中国中药杂志, 2024, 49(2): 443—452.
- [28] 李莹滢, 林蒙蒙, 曹波, 等. 免疫应激介导的淫羊藿苷协同补骨脂甲素致特异质肝损伤的靶向代谢组学研究. 科学通报, 2023, 68(33): 4570—4584.
- [29] Lin MM, Li YY, Cao B, et al. Bavachin combined with epimedin B induce idiosyncratic liver injury under immunological stress conditions. *Chemico-Biological Interactions*, 2023, 386: 110774.
- [30] Wang Y, Gaul DS, Pahla J, et al. High dose NAD⁺ boosting as pan-sirtuin activation increases atherosclerotic plaques and systemic inflammation in Apoe knockout mice. *European Heart Journal*, 2023, 44(2): ehad655.3271.
- [31] Gerner RR, Klepsch V, Macheiner S, et al. NAD metabolism fuels human and mouse intestinal inflammation. *Gut*, 2018, 67(10): 1813—1823.
- [32] Zhang LQ, Nsumu M, Huang PX, et al. Novel protective role of nicotinamide phosphoribosyltransferase in acetaminophen-induced acute liver injury in mice. *The American Journal of Pathology*, 2018, 188(7): 1640—1652.
- [33] Zan K, Lei W, Li YL, et al. Integrative metabolomics and proteomics detected hepatotoxicity in mice associated with alkaloids from *Eupatorium fortunei* Turcz. *Toxins*, 2022, 14(11): 765.
- [34] Wang XQ, Liang TY, Mao Y, et al. Nervonic acid improves liver inflammation in a mouse model of Parkinson's disease by inhibiting proinflammatory signaling pathways and regulating metabolic pathways. *Phytomedicine*, 2023, 117: 154911.
- [35] Konishi T, Lentsch AB. Changes in arachidonic acid metabolism during liver ischemia triggers induction of inflammatory injury. *Hepatology*, 2018, 68(4): 1642—1643.
- [36] 涂灿, 郭兆娟, 蒋冰倩, 等. 基于非靶向代谢组学的白鲜碱致肝损伤性别差异研究. 中国中药杂志, 2023, 48(12): 3317—3326.
- [37] 周元园, 牛明, 涂灿, 等. 中药特异质肝损伤易感因素的代谢组学研究: 以何首乌制剂为例. 科学通报, 2019, 64(9): 948—962.
- [38] 宋迪, 陈帅帅, 李朋彦, 等. 补骨脂潜在肝毒性的修制减毒方法研究: 酒浸水漂法. 药学学报, 2020, 55(2): 276—282.

Analyzing the Mechanism of Traditional Chinese Medicines-induced Immune Idiosyncratic Liver Injury Using the “Three Factors Causing Toxicity” Hypothesis

Chunyu Li¹ Guohui Li^{1*} Xiaohe Xiao^{2*}

1. National Cancer Center/National Clinical Research Center for Cancer/Cancer Hospital,

Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021

2. Department of Hepatology, The Fifth Medical Centre of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039

Abstract Idiosyncratic drug-induced liver injury (IDILI) poses a significant challenge in the withdrawal of new drugs due to its unpredictable nature and low incidence rate. IDILI results from a synergistic effect involving individual predisposition, environmental factors, and drug characteristics. Immune response is a key factor in IDILI, attracting considerable attention. The study of traditional Chinese medicines (TCM)-induced idiosyncratic liver injury has emerged as a prominent research area due to the complexity of TCM composition and application. Based on the liver injury characteristics of Polygonum Multiflorum, we propose the “Three Factors Causing Toxicity” hypothesis, offering new insights and methods for evaluating and researching the mechanism of TCM-induced immune idiosyncratic liver injury. Therefore, based on the scientific connotation of the “Three Factors Causing Toxicity” hypothesis and using Xianling Gubao (XLGB) as an example, this paper clarifies that immune stress may be an important causative factor of its IDILI through literature reports, clinical retrospective analysis and laboratory studies; with the help of immune stress model, the material basis of its liver injury is clarified and its component types are distinguished; and its mechanism is preliminarily explored by metabolomics technology. The results showed that this hypothesis can analyse the causative mechanism of immune idiosyncratic liver injury, and it has a certain degree of universality, which can provide research ideas and scientific basis for the scientific evaluation of the prevention and control of the risk of immune idiosyncratic liver injury in TCM.

Keywords “Three Factors Causing toxicity” hypothesis; TCM-induced immune idiosyncratic liver injury; immune stress; Xianling Gubao; material base

(责任编辑 张强)

* Corresponding Authors, Email: lgh0603@picams.ac.cn; pharmacy302xxh@126.com