

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxb.002446

百里醌通过激活 SIRT1/STAT3 通路对脓毒症所致大鼠肝损伤和糖代谢紊乱的保护作用

王龙海

(江西省中西医结合医院重症医学科,南昌 330003)

【摘要】目的:评估百里醌对脓毒症大鼠的治疗潜力,探讨其潜在的分子机制。**方法:**盲肠结扎穿刺(cecum ligation and puncture, CLP)诱导大鼠脓毒症模型,CLP 术后每 12 h 经腹腔注射百里醌(20 mg/kg),持续 3 d,同时腹腔注射或不注射沉默信息调节因子 1(sirtuin1,SIRT1)抑制剂 EX527(5 mg/kg)。检测大鼠空腹血糖和空腹胰岛素水平;利用赖氏分析法测定大鼠血清中天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)及丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)含量;利用免疫组化测定大鼠肝组织中白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)含量;Western blot 测定 p-Akt、t-Akt、SIRT1、p-信号转导因子和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、PEPCK、G6Pase 和 t-STAT3 的含量;DCFH-DA 荧光探针法测定肝脏组织内活性氧(reactive oxygen species, ROS)表达;免疫沉淀反应分析乙酰化 STAT3 在肝组织中的表达。**结果:**脓毒症大鼠肝脏 SIRT1/STAT3 通路明显受到抑制,AST、ALT、IL-6 和 TNF- α 表达上调,血糖和胰岛素水平升高;百里醌可促进肝脏 SIRT1 表达和 STAT3 磷酸化,减轻脓毒症导致的肝功能障碍和糖代谢紊乱;EX527 显著降低百里醌对脓毒症引起的肝损伤、糖代谢紊乱和 STAT3 失活的保护作用。**结论:**百里醌可作为一种潜在治疗脓毒症导致肝功能损害和糖代谢紊乱的药物,其作用机制可能通过激活肝脏 SIRT1/STAT3 通路来实现。

【关键词】脓毒症;百里醌;肝糖异生;沉默信息调节因子 1;信号转导因子和转录激活因子 3

【中图分类号】R735.3⁺

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-12-20

Protective effects of thymoquinone on sepsis-induced liver injury and glucose metabolism disorder in rats by activating SIRT1/STAT3 pathway

Wang Longhai

(Intensive Care Unit, Jiangxi Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine)

【Abstract】**Objective:** To evaluate the therapeutic potential of thymoquinone in rats with sepsis and explore the underlying molecular mechanism. **Methods:** Cecum ligation and puncture (CLP) was used to induce sepsis rats model. Thymoquinone (20 mg/kg) was intraperitoneally injected every 12 h for three days after CLP, with or without intraperitoneal injection of the sirtuin1 (SIRT1) inhibitor EX527 (5 mg/kg). The expression of fasting blood glucose and fasting insulin were detected after the designed treatment. The relative expression of aspartate aminotransferase (AST) and lactic alanine transaminase (ALT) in serum were determined by Reit's analysis method. Levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in liver tissues were analyzed by immunohistochemistry. Levels of p-Akt, t-Akt, SIRT1, p-signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), PEPCK, G6Pase and t-STAT3 were evaluated by Western blot. The expression of reactive oxygen species (ROS) in liver tissues was detected by DCFH-DA fluorescence probe and the level of acetylated STAT3 in liver tissues was determined by immunoprecipitation analysis. **Results:** The hepatic SIRT1/STAT3 pathway of septic rats was significantly inhibited, expressions of AST, ALT, IL-6 and TNF- α were up-regulated, and levels of fasting blood glucose and fasting insulin were increased. Thymoquinone administration was able to promote STAT3 phosphorylation and alleviate liver dysfunction and glucose metabolism disorder. EX527 significantly diminished the protective effect of thymoquinone on sepsis induced liver injury, hyperglycaemia and STAT3 inactivation. **Conclusion:** Thymoquinone is a potential therapeutic agent for sepsis-associated liver injury and glucose metabolism disorder and its mechanism may be realized by activating SIRT1/STAT3 pathway.

作者介绍:王龙海,Email:wuzhihao2015@sina.com,

研究方向:脓毒血症的临床治疗和基础研究。

基金项目:2017 年度江西省卫计委中医药科研资助项目(编号:

2017A141)。

优先出版:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200416.1413.008.html>

(2020-04-17)

【Key words】 sepsis; thymoquinone; hepatic gluconeogenesis; sirtuin1; signal transducer and activator of transcription 3

脓毒症作为一种由感染引起机体生理、病理和生化紊乱的特异性反应,可导致肺、肝、肾等多器官功能障碍,并导致严重的糖代谢紊乱。由于其复杂的发病机制,脓毒症的诊断和治疗对临床医生和科学家来说仍然是一个巨大的挑战^[1]。通过对脓毒症病理生理过程和发病机制的进一步了解,开发新的脓毒症治疗策略是危重脓毒症患者的迫切需要。目前普遍认为,脓毒症导致机体发生促炎细胞因子失调和氧化应激是导致肝损伤的主要因素,因此控制这 2 类反应对脓毒症患者的预后具有根本性影响^[2]。

百里醌是一种从黑种草籽中分离得到的苯醌化合物,具有抗氧化、抗炎、抗凋亡和抗肿瘤等多种药理学功效^[3-4],同时对正常细胞的抑制作用较小^[5]。然而,百里醌对脓毒症诱导的糖代谢紊乱和肝损伤的保护作用还有待探索。因此,本研究采用盲肠结扎穿刺(cecum ligation and puncture, CLP)大鼠脓毒症模型,深入研究百里醌改善脓毒症导致大鼠肝损伤和糖代谢紊乱的作用及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

7 周龄雄性 Sprague-Dawley 大鼠,体质量 220~250 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号:SCXK(京)2017-0022。所有大鼠维持 12 h 光照/12 h 黑暗循环,不限制进食和饮水,在实验前适应周围环境 1 周;百里醌和沉默信息调节因子 1(sirtuin 1, SIRT1)抑制剂 EX527 购自美国 Sigma 公司;丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)测定试剂盒购自上海纪宁科研试剂有限公司;ROS 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;BCA 蛋白质浓度测定试剂盒和 RIPA 裂解物购自北京中山生物工程有限公司;p-Akt、t-Akt、SIRT1 和 β -catenin 抗体购自美国 Epitomics 公司;磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPCK)、葡萄糖 6 磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6Pase)、p-信号传导因子和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、t-STAT3、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)抗体购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 造模及分组 参照 Yuan FH 等^[6]的研究,采用 CLP 法复制大鼠脓毒症模型。采用腹腔注射 10% 水合氯醛(35 mg/kg)麻醉大鼠。无菌条件下,在大鼠腹部中线行 1 cm 切口并显露盲肠,用 5-0 丝线在回盲瓣处缝合盲肠根部系膜,然后用 18 号针头 2 次刺穿盲肠,挤出少许大便,再用无菌 4-0 丝线缝合腹膜组织和皮肤切口。术后立即用生理盐水(30 mL/kg)和

亚胺培南/西拉他汀(25 mg/kg)经腹腔注射进行液体复苏。假手术组大鼠在没有结扎和穿刺盲肠的情况下进行剖腹手术。

在最佳剂量测定实验中,将大鼠随机分为 7 组(每组 10 只):对照组,不做任何干预;假手术组;CLP 组;百里醌 5、20、50、100 mg/kg 组,CLP 大鼠经腹腔注射不同剂量百里醌。百里醌溶解在无水乙醇中,使用灭菌生理盐水进行稀释,最终乙醇浓度为 1%。

后续实验将大鼠分为 4 组(每组 10 只):假手术组,每只经腹腔注射 1% 酒精生理盐水(1 mL/kg);CLP 组,每只经腹腔注射 1% 酒精生理盐水(1 mL/kg);百里醌组,CLP 术后 2 h,每隔 12 h 注射百里醌 20 mg/kg;④EX527 组,CLP 术前 1 h 经腹腔注射 EX527 5 mg/kg,术后每日 1 次,共 3 d,同时注射百里醌 20 mg/kg。实验第 3 天,禁食大鼠 6 h 后采集尾静脉血,分别检测各组大鼠空腹血糖和胰岛素表达水平,断头法处死大鼠后完整留取大鼠肝脏组织,放置在-80 ℃ 保存,以做进一步研究。

1.2.2 Western blot 将肝组织匀浆加入冷 RIPA 裂解缓冲液中,采用 BCA 蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度,样品用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)在 10% 凝胶上转移到聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,通过脱脂奶粉进行封闭操作,整体实验环境为 4℃,维持 12 h, PVDF 膜分别经过一抗和二抗孵育后,利用显影定影试剂盒完成最后的显色和曝光操作。

1.2.3 测定 ALT 和 AST 的表达 实验第 3 天,大鼠经尾静脉采集静脉血置于血生化试管,用 7170S 型自动检测仪采用赖氏法^[7]检测各组大鼠血清肝功能指标水平。

1.2.4 免疫组织化学法检测 IL-6 和 TNF- α 的表达 大鼠肝脏组织用 5% 甲醛固定过夜,用梯度乙醇脱水法将肝脏组织进行脱水操作,包埋在石蜡中并切片。将肝组织切片进行 HE 染色后再经中性树胶封固,在倒置显微镜下观察。根据 SP 染色法对组织切片进行免疫组织化学染色,IL-6 和 TNF- α 阳性表达大都在细胞质中,随机选择 20 个视野并在低倍镜下拍照,使用 Image-Pro Plus 6.0 图像处理软件分析 IL-6 和 TNF- α 在样本中的积分光密度(integral optical density, IOD)值,取平均值。

1.2.5 细胞内 ROS 检测 将新鲜肝脏组织匀浆成蛋白上清液,用 PBS 液稀释 10 nmol/L 的 DCFB-DA 专业探针 10 倍,加入配制好的蛋白上清液并置于室温的暗室中反应 25 min,充分摇晃反应体系,让探针跟细胞高度结合,在荧光显微镜下观察 ROS 表达,使用 Image-Pro Plus 6.0 图像处理软件分析原位荧光密度值,以平均 FITC-A 量评估 ROS 水平。

1.2.6 免疫沉淀反应 大鼠肝脏组织在含有蛋白酶抑制剂 PMSF 的 RIPA 缓冲液中进行裂解处理,4℃ 下 20 000 r/min 离心 30 min,在 4℃ 下用蛋白 A/G 琼脂糖珠预孵 2 h,使蛋白与免疫沉淀基质的非特异性结合最小化,用抗 STAT3 抗体或正常兔 IgG(阴性对照)和蛋白 A/G 琼脂糖免疫沉淀 STAT3,再经 RIPA 缓冲液洗涤、沉淀洗脱和 SDS-PAGE 分离后,使用 STAT3 和抗乙酰化赖氨酸抗体进行 Western blot。

1.3 统计学处理

所有测量数据表示为均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$)，并且通过 ANOVA 方差 SNK-q 方法分析 2 个样品之间的差异。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 百里醌对 CLP 大鼠肝脏 SIRT1 表达及 Akt 磷酸化的影响

为明确百里醌调节大鼠肝脏 SIRT1 蛋白表达和 Akt 磷酸化最佳剂量，大鼠在 CLP 术后注射 4 种不同剂量 (5、20、50、100 mg/kg) 的百里醌。对照组和假手术组大鼠反应灵敏、总体情况无明显变化，CLP 造模手术后大鼠均出现竖毛、少尿、腹胀腹泻和眼角出现血性分泌物等脓毒症模型症状，给药后百里醌组相应症状减轻。实验结束时，对照组、假手术组、CLP 组、百里醌 5 mg/kg 组、百里醌 20 mg/kg 组、百里醌 50 mg/kg 组和百里醌 100 mg/kg 组大鼠死亡数量分别为 0、0、6、2、3、3、2 只。如图 1 所示，与对照组和假手术组相比，CLP 手术显著抑制了大鼠肝脏中 SIRT1 的表达和 Akt 的磷酸化程度。百里醌作用后部分恢复了肝脏中 SIRT1 的表达和磷酸化 Akt 的水平，百里醌剂量为 20 mg/kg 时对 SIRT1 和 p-Akt 的调控作用最强，当百里醌剂量高于 20 mg/kg 时，增加百里醌剂量不会导致 SIRT1 表达或 Akt 磷酸化增加(表 1)。为此，后续实验采用百里醌的剂量为 20 mg/kg。

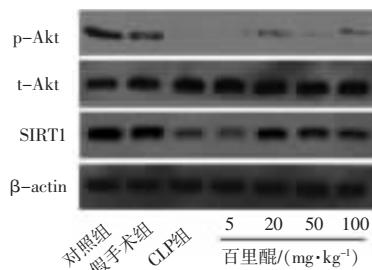


图 1 不同剂量百里醌对脓毒症大鼠肝组织中 SIRT1 和 p-Akt 水平的影响

2.2 百里醌减轻脓毒症大鼠的糖代谢紊乱

CLP 术后第 3 天，CLP 组大鼠的空腹血糖和胰岛素水平高于假手术组，差异有统计学意义(均 $P<0.001$)；与 CLP 组相比，百里醌组大鼠的空腹血糖和胰岛素表达水平明显下降(均 $P<0.001$)。具体如图 2 所示。为了研究百里醌对 CLP 大鼠糖代谢的影响是否由 SIRT1 介导，本研究使用 SIRT1 特异性抑制剂 EX527 下调机体中的 SIRT1 活性。结果表明，EX527 给药消除百里醌对大鼠糖代谢的影响，与百里醌组相比，EX527 组大鼠的空腹血糖和胰岛素水平明显上调(均 $P<0.001$)。

2.3 SIRT1 抑制剂 EX527 拮抗百里醌对肝损伤的保护作用

实验结束后取肝脏组织进行 HE 染色，结果如图 3A 所示。镜下观察到 CLP 组大鼠肝组织出现肝脏局灶性或块状坏死，同时伴有较多炎症细胞，而百里醌对 CLP 大鼠肝脏组织坏死有一定的缓解作用，但这种效应又被 EX527 部分逆转。

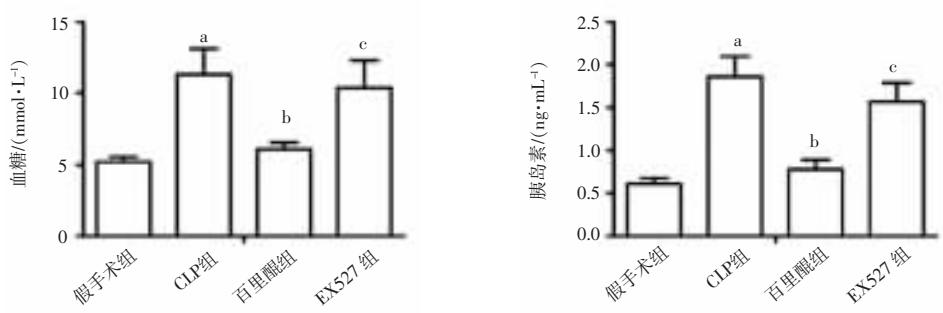
进一步研究使用免疫组织化学法测定 IL-6 和 TNF- α 在大鼠肝组织中的阳性表达，如图 3B、C 所示，CLP 术后大鼠肝组织中 IL-6 和 TNF- α 的含量较假手术组大幅提高，2 组间差异均有统计学意义(均 $P<0.001$)。20 mg/kg 百里醌可以明显减轻促炎细胞因子 IL-6 和 TNF- α 的表达，与 CLP 组相比较，差异有统计学意义(均 $P<0.001$)。在 EX527 处理后，百里醌缓解肝脏炎症反应的作用被部分拮抗($P=0.004, P=0.002$)，结果见表 2。

ROS 在细胞中的积累被认为是一种重要的细胞毒性机制。为确定百里醌是否影响 CLP 术后大鼠肝脏 ROS 的产生，本研究采用 DCFH-DA 染色法对肝组织进行染色。如图 4 所示，CLP 术后荧光强度较假手术组明显增强，而百里醌明显减轻肝组织的荧光强度，提示肝脏氧化应激减轻。在 EX527 处理后，百里醌对肝组织氧化应激的作用明显减弱，表明在脓毒症条件下，SIRT1 活性对百里醌发挥肝脏保护作用起关键作用。

表 1 不同剂量百里醌组肝组织中 SIRT1 和 p-Akt 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s, \text{mg/kg}$)

指标	5	20	50	100
p-Akt	0.294 ± 0.037^a	0.862 ± 0.690	0.305 ± 0.042^a	0.718 ± 0.066
SIRT1	0.973 ± 0.115^a	4.064 ± 0.542	3.887 ± 0.425	3.951 ± 0.517

注：a，与百里醌 5 mg/kg 组相比较， $P<0.05$



注：a，与假手术组相比较， $P<0.05$ ；b：与 CLP 组比较， $P<0.05$ ；c：与百里醌组比较， $P<0.05$

图 2 百里醌对脓毒症所致大鼠糖代谢紊乱的作用

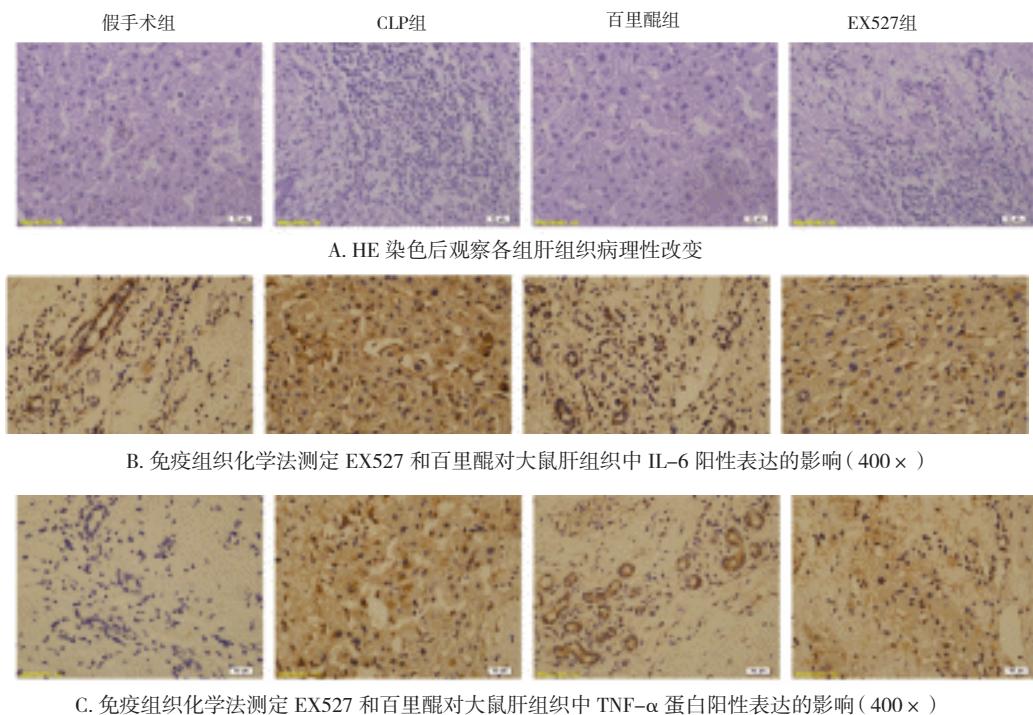


图3 EX527拮抗百里醌对肝损伤的保护作用

表2 各组肝组织中IL-6和TNF-α蛋白的IOD值比较($\bar{x} \pm s$)

指标	假手术组	CLP组	百里醌组	EX527组
IL-6	57.85 ± 8.65	234.75 ± 38.92^a	117.67 ± 20.33^b	197.38 ± 23.42^c
TNF-α	29.69 ± 3.08	169.46 ± 25.51^a	53.27 ± 9.36^b	115.18 ± 19.63^c

注:a:与假手术组相比较, $P < 0.05$; b:与CLP组比较, $P < 0.05$; c:与百里醌组比较, $P < 0.05$

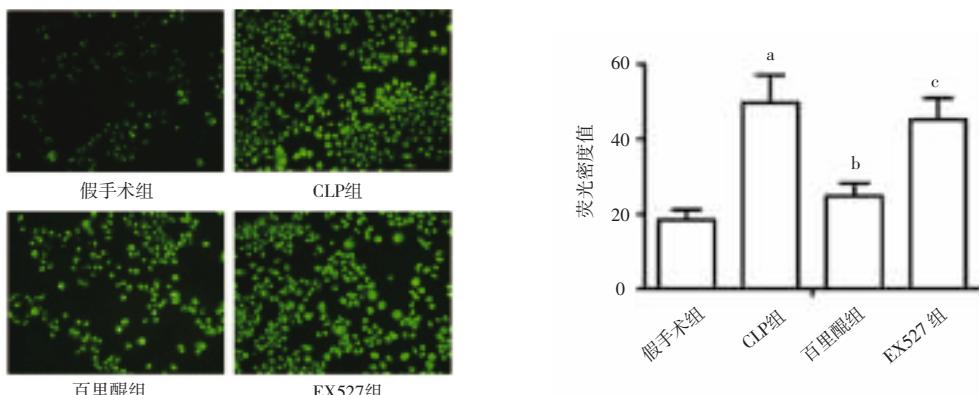


图4 采用DCFH-DA染色法观察不同组别大鼠肝组织ROS的表达

2.4 百里醌对糖代谢紊乱和肝损伤保护作用的机制研究

为深入探讨百里醌对脓毒症后糖代谢紊乱和肝功能损害的保护作用,应用Western blot测定SIRT1/STAT3通路和糖异生过程中关键酶PEPCK和G6Pase的表达。结果如图5A所示,在CLP大鼠肝脏中,SIRT1、p-STAT3和p-Akt蛋白的含量明显下调,而PEPCK和G6Pase的表达明显上调;20 mg/kg百里醌治疗CLP大鼠后,肝组织中SIRT1、p-STAT3和p-Akt

蛋白表达上调,同时百里醌作用后降低了肝组织中PEPCK和G6Pase蛋白的表达水平。另外,EX527 5 mg/kg作用后部分逆转了百里醌对上述蛋白的调控作用。此外,本研究还通过免疫沉淀分析以确定乙酰化修饰是否参与了STAT3的调控。结果如图5B所示,CLP广泛诱导大鼠肝组织STAT3乙酰化,百里醌治疗显著降低了肝组织中乙酰化STAT3水平,而SIRT1活性抑制剂EX527处理可拮抗百里醌诱导的乙酰化STAT3水平下降。

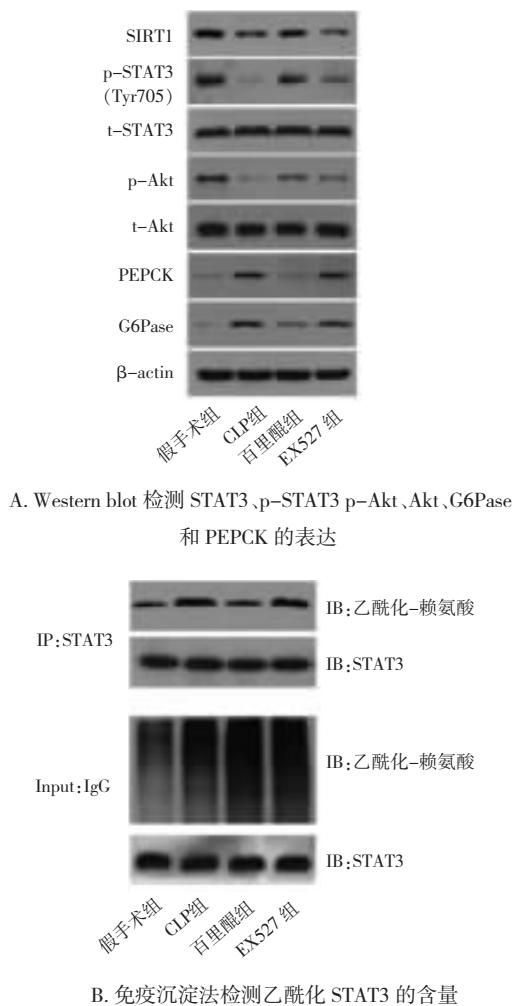


图 5 百里醌对 CLP 诱导的脓毒症大鼠糖代谢紊乱和肝损伤保护作用的机制研究

3 讨 论

本研究通过 CLP 术后大鼠脓毒症模型来研究百里醌对脓毒症的潜在治疗作用,结果显示百里醌对脓毒症大鼠的肝损伤有一定缓解。异常激活的 CLP 大鼠肝糖异生在百里醌的作用下明显减弱,其作用可能是通过促进肝脏 STAT3 磷酸化而实现。此外, SIRT1 活性对百里醌的抗炎和抗高血糖作用是必要的。

目前,脓毒症治疗除了加强抗生素外,尚无有效的治疗方法可以减轻器官损害和防止患者病情恶化。肝脏在代谢稳态和宿主对病原体的防御反应中起关键作用,肝功能异常被认为是脓毒症患者预后不良的早期指标之一^[8-9]。炎症过度激活已被证实为脓毒症的主要病理生理过程,脓毒症患者常因促

炎细胞因子和其他炎症介质的过量产生而发生全身炎症反应综合征^[10]。因此,早期抑制炎症反应和维持机体促炎细胞因子和抗炎细胞因子之间的平衡被认为是脓毒症治疗的决定性因素^[11]。此外,ROS 的生成增强也与脓毒症多器官功能障碍有关^[12]。百里醌作为一种有效的抗氧化剂,在脓毒症的早期和晚期均有保护作用^[13]。本研究中,百里醌可有效抑制 CLP 大鼠肝脏中 ROS 生产和促炎细胞因子(IL-6 和 TNF- α)的表达,这可能是百里醌发挥脓毒症后肝功能损害保护作用的主要作用机制。

SIRT1 是一种依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的Ⅲ类蛋白去乙酰化酶,SIRT1 参与许多细胞病理生理过程,包括细胞生长、存活、炎症、代谢和热量限制等,其调节功能通过组蛋白和非组蛋白的去乙酰化介导^[14]。有研究表明,SIRT1 可以减轻氧化应激,减少特异性促炎介质的产生,从而减轻脓毒症或药物毒性引起的肝、肺、肾和脑损伤^[15]。然而,SIRT1 对脓毒症保护作用的下游蛋白靶点仍不清楚。STAT3 参与机体多种重要的细胞生理过程,尤其是在脓毒症诱发的肝脏炎症反应中^[16]。最近有报道,SIRT1 介导的肝脏 STAT3 磷酸化和去乙酰化在脓毒症条件下发挥重要的代谢调节作用^[17],提示这 2 个分子之间的相互作用可能为控制脓毒症中肝功能障碍提供有希望的治疗优势。本研究中,百里醌可激活 SIRT1/STAT3 通路,而 EX527 削弱了百里醌的脓毒症治疗作用,表明 SIRT1 活性在百里醌改善脓毒症后肝功能损伤中发挥了重要作用。

脓毒症除了广泛的炎症反应、氧化应激和多器官损害外,通常还会引起明显的高血糖和胰岛素抵抗,主要是由于肝糖异生增强^[18]。PEPCK 和 G6Pase 是参与糖异生过程的 2 种关键限速酶,PEPCK 和 G6Pase 的失调可导致机体葡萄糖代谢紊乱,同时 STAT3 调控 PEPCK 和 G6Pase 的表达^[19-20]。本研究中,CLP 术后可导致大鼠血糖和血清胰岛素水平明显升高。Western blot 进一步分析显示,脓毒症大鼠肝脏中 G6Pase 和 PEPCK 表达明显上调,与之前的报道相仿^[19]。大量证据表明,百里醌与葡萄糖代谢之间存在复杂的联系,在高脂饮食诱导的糖尿病大鼠模型中,百里醌可减轻实验动物体质量、高血糖和高胰岛素血症^[21]。然而,目前尚未有研究关注百里醌对脓毒症患者葡萄糖代谢的影响。有研究表明,STAT3 在 db/db 小鼠中的异位表达可改善糖尿病症

状,当 STAT3 基因在酪氨酸 705(tyrosine 705, Tyr705) 位点发生基因突变时,这种治疗作用被消除,表明 STAT3 在 Tyr705 位点发生磷酸化在机体糖代谢过程中发挥了关键作用^[22]。本研究发现,百里醌可促进 STAT3 在 Tyr705 位点上的磷酸化程度。同时免疫沉淀研究表明,百里醌可下调赖氨酸 685 的乙酰化,而 SIRT1 可以直接作用于 STAT3 蛋白。因此推测百里醌通过调控 SIRT1 的表达并激活 STAT3,从而显著降低 CLP 大鼠模型肝脏组织中 G6Pase 和 PEPCK 的含量,恢复 Akt 磷酸化,进而在维持脓毒症大鼠葡萄糖稳态中发挥作用。然而,所有百里醌的这些作用都被特异性 SIRT1 抑制剂 EX527 强烈拮抗。

综上所述,百里醌作为一种潜在的治疗药物,可能通过调控肝脏中 SIRT1 介导的 STAT3 激活,从而缓解脓毒症相关的肝损害和体内葡萄糖代谢紊乱。然而,STAT3 磷酸化和乙酰化之间的关系以及这些修饰在脓毒症中的功能意义还有待阐明,进一步研究百里醌在脓毒症条件下调控肝糖异生的复杂机制至关重要。百里醌是一种在多种生理条件下都具有较高安全性的药物,本研究为未来临床应用百里醌治疗脓毒症合并高血糖患者奠定了一定的理论基础。

参 考 文 献

- [1] Gaddam RR, Chambers S, Fraser R, et al. Cystathionine- γ -lyase-derived hydrogen sulfide-regulated substance P modulates liver sieve fenestrations in caecal ligation and puncture-induced *Sepsis*[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): E3191.
- [2] Wong DM, Ruby RE, Dembek KA, et al. Evaluation of updated *Sepsis* scoring systems and systemic inflammatory response syndrome criteria and their association with sepsis in equine neonates[J]. *J Vet Intern Med*, 2018, 32(3): 1185–1193.
- [3] Oskouei Z, Akaberi M, Hosseinzadeh H. A glance at black cumin (*Nigella sativa*) and its active constituent, thymoquinone, in ischemia: a review[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2018, 21(12): 1200–1209.
- [4] Nili-Ahmadvabadi A, Alibolandi P, Ranjbar A, et al. Thymoquinone attenuates hepatotoxicity and oxidative damage caused by diazinon: an *in vivo* study[J]. *Res Pharm Sci*, 2018, 13(6): 500–508.
- [5] Zhang YJ, Fan YZ, Huang SK, et al. Thymoquinone inhibits the metastasis of renal cell cancer cells by inducing autophagy via AMPK/mTOR signaling pathway[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(12): 3865–3873.
- [6] Yuan FH, Chen YL, Zhao Y, et al. microRNA-30a inhibits the liver cell proliferation and promotes cell apoptosis through the JAK/STAT signaling pathway by targeting SOCS-1 in rats with *Sepsis*[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 17839–17853.
- [7] Rasooli A, Fatemi F, Hajhosseini R, et al. Synergistic effects of deuterium depleted water and *Mentha longifolia* L. essential oils on *Sepsis*-induced liver injuries through regulation of cyclooxygenase-2[J]. *Pharm Biol*, 2019, 57(1): 125–132.
- [8] Alcamo AM, Alessi LJ, Vehovic SN, et al. Severe *Sepsis* in pediatric liver transplant patients: the emergence of multidrug-resistant organisms[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2019, 20(7): e326–e332.
- [9] Bakalli I. Liver dysfunction in severe *Sepsis* from respiratory syncytial virus[J]. *J Pediatr Intensive Care*, 2018, 7(2): 110–114.
- [10] Ye XL, Wang F, Ding YP, et al. Plasma exchange improves outcome of *Sepsis*-associated liver failure: a case report[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(18): e15307.
- [11] Pischke SE, Hestenes S, Johansen HT, et al. *Sepsis* causes right ventricular myocardial inflammation independent of pulmonary hypertension in a porcine *Sepsis* model[J]. *PLoS One*, 2019, 14(6): e0218624.
- [12] Gu JQ, Luo LC, Wang Q, et al. Maresin 1 attenuates mitochondrial dysfunction through the ALX/cAMP/ROS pathway in the cecal ligation and puncture mouse model and *Sepsis* patients[J]. *Lab Invest*, 2018, 98(6): 715–733.
- [13] Liu HY, Sun Y, Zhang Y, et al. Role of thymoquinone in cardiac damage caused by *Sepsis* from BALB/c mice[J]. *Inflammation*, 2019, 42(2): 516–525.
- [14] Wei SW, Gao YG, Dai XG, et al. SIRT1-mediated HMGB1 deacetylation suppresses *Sepsis*-associated acute kidney injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019, 316(1): F20–F31.
- [15] Liu Y, Guan H, Zhang JL, et al. Acute downregulation of miR-199a attenuates *Sepsis*-induced acute lung injury by targeting SIRT1[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 314(4): C449–C455.
- [16] Williamson L, Ayalon I, Shen H, et al. Hepatic STAT3 inhibition amplifies the inflammatory response in obese mice during *Sepsis*[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2019, 316(2): E286–E292.
- [17] Xu B, He X, Sui Y, et al. Ginkgetin aglycone attenuates neuroinflammation and neuronal injury in the rats with ischemic stroke by modulating STAT3/JAK2/SIRT1[J]. *Folia Neuropathol*, 2019, 57(1): 16–23.
- [18] Choi M, Tamrakar P, Schuck PF, et al. Effect of hypobaria and hyperoxia during *Sepsis* on survival and energy metabolism[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2018, 85(1S2): S68–S76.
- [19] Chu PY, Jiang SS, Shan YS, et al. Mitochondrial phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK-M) regulates the cell metabolism of pancreatic neuroendocrine tumors(pNET) and de-sensitizes pNET to mTOR inhibitors[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(61): 103613–103625.
- [20] Yuan JH, Qiao JY, Mu B, et al. Inhibition of SphK2 stimulated hepatic gluconeogenesis associated with dephosphorylation and deacetylation of STAT3[J]. *Arch Med Res*, 2018, 49(5): 335–341.
- [21] Farah KM, Ibrahim AK, Elsonosy YA. Thymoquinone enhances the activities of enzymes related to energy metabolism in peripheral leukocytes of diabetic rats[J]. *Res Vet Sci*, 2010, 88(3): 400–404.
- [22] Zhang S, Li J, Xie P, et al. STAT3/c-myc axis-mediated metabolism alternations of inflammation-related glycolysis involve with colorectal carcinogenesis[J]. *Rejuvenation Res*, 2019, 22(2): 138–145.

(责任编辑:张学颖)