

# 抑制 IP3R-Ca<sup>2+</sup> 途径对对乙酰氨基酚所致肝损伤及其线粒体内质网结构偶联的影响

徐王婷,宋育林

**摘要** 目的 探讨抑制肌醇-1,4,5-三磷酸受体(IP3R)-Ca<sup>2+</sup>途径对对乙酰氨基酚(APAP)所致肝损伤及其线粒体内质网结构偶联(MAMs)的影响。方法 40只SPF级雄性C57BL/6小鼠随机分为正常对照组、模型组、IP3R抑制剂(2-APB)组、钙离子螯合剂(BAPTA-AM)组,每组10只。模型组、2-APB组、BAPTA-AM组单次腹腔注射APAP(300 mg/kg)。注射APAP前30 min,2-APB组腹腔注射2-APB(20 mg/kg),BAPTA-AM组腹腔注射BAPTA-AM(2.5 mg/kg)。腹腔注射APAP 24 h后处死各组小鼠。测定血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)水平;HE染色观察肝脏病理变化;透射电镜观察肝细胞中线粒体、内质网结构及MAMs变化;测定肝组织匀浆中的Ca<sup>2+</sup>水平;Western blot测定肝组织中线粒体融合蛋白1(MFN1)、线粒体融合蛋白2(MFN2)、1,4,5-三磷酸肌醇受体1(IP3R1)、葡萄糖调节蛋白75(GRP75)蛋白表达水平。结果 与正常对照组相比,模型组小鼠血清ALT及AST水平有所升高( $P < 0.01$ ),肝脏组织病理学可见肝细胞排列紊乱,并出现肝细胞变性、小叶中心性坏死;透射电镜示线粒体嵴断裂、消失,内质网肿胀断裂,MAMs数量增加;肝组织匀浆中Ca<sup>2+</sup>含量增加( $P < 0.01$ );MFN1、MFN2蛋白表达降低( $P < 0.01$ ),IP3R1及GRP75蛋白表达增加( $P < 0.01$ )。与模型组相比,2-APB组和BAPTA-AM组小鼠血清ALT、AST水平下降( $P < 0.01$ ),肝脏病理变化明显改善,MAMs减少,肝组织匀浆中Ca<sup>2+</sup>含量减少( $P < 0.01$ ),MFN1、MFN2的蛋白表达水平上调( $P < 0.01$ ),IP3R1及GRP75蛋白表达降低( $P < 0.01$ )。结论 抑制IP3R-Ca<sup>2+</sup>途径可以保护APAP所致的肝损伤,其机制与降低肝脏Ca<sup>2+</sup>水平、减少MAMs数量、调节MAMs相关蛋白的表达有关。

**关键词** 对乙酰氨基酚;肝损伤;2-氨基乙酯二苯基硼酸盐;1,2-双(2-氨基苯氧基)-乙烷-N,N,N',N'-四乙酸;肌醇-1,4,5-三磷酸受体;钙离子;线粒体内质网结构偶联

中图分类号 R 575;R 99

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)07-1077-05  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.003

对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)因具有解热、镇痛的作用而被广泛应用于临床,但是摄入过量APAP会引起严重的肝损伤。APAP所致肝损伤的确切机制尚不明确,可能与乙酰苯醌亚胺(N-acetyl-p-benzoquinone imine, NAPQI)形成、线粒体损伤、内质网应激等有关<sup>[1]</sup>。线粒体内质网结构偶联(mitochondrial-associated endoplasmic reticulum membranes, MAMs)是线粒体和内质网之间存在的特殊的物理和生化连接区域,富集着多种蛋白质,如1,4,5-三磷酸肌醇受体(inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, IP3R)、葡萄糖调节蛋白75(glucose regulated protein 75, GRP75)、线粒体融合蛋白2(mitofusin 2, MFN2)等,参与内质网应激、维持钙稳态和线粒体形态、脂质合成和运输等过程<sup>[2]</sup>,并与非酒精性脂肪肝等慢性肝病有关<sup>[3]</sup>。2-氨基乙氧基二苯基硼酸盐(2-aminoethoxydiphenyl borate, 2-APB)是IP3R抑制剂<sup>[4]</sup>,1,2-双(2-氨基苯氧基)-乙烷-N,N,N',N'-四乙酸[1,2-bis(2-aminophenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid, BAPTA-AM]是公认的钙离子螯合剂<sup>[5]</sup>。为此,该研究通过观察2-APB、BAPTA-AM对APAP所致小鼠肝损伤及其肝脏超微结构、肝组织Ca<sup>2+</sup>水平、MAMs相关蛋白线粒体融合蛋白1(mitofusin 1, MFN1)、MFN2、IP3R1、GRP75表达的影响,探讨抑制IP3R-Ca<sup>2+</sup>途径对APAP所致肝损伤及其MAMs的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 40只健康的SPF级雄性C57BL/6小鼠,鼠龄7周,体质量18~22 g,购自杭州子源实验动物科技有限公司;动物许可证号:SCXK(浙)2019-0004。

**1.2 试剂与仪器** APAP(纯度大于99%)和BAPTA-AM(纯度大于99%)购自美国MedChemExpress

2023-05-15 接收

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(编号:KJ2016A337);2016—2018年安徽高校科研平台创新团队建设项目—药物性肝损伤团队(编号:皖教秘科[2015]49号)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院消化科,安徽省消化系统疾病重点实验室,合肥 230022

作者简介:徐王婷,女,硕士研究生;

宋育林,男,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: ylsongen@163.com

公司;2-APB 购自美国 Sigma 公司(纯度 97%);丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)检测试剂盒为罗氏诊断产品(上海)有限公司生产;GRP75、GAPDH 抗体为合肥朵能生物科技有限公司产品(货号:AB011901、AB010301);MFN1、MFN2 及 IP3R1 抗体购自美国 Signalway Antibody 公司(货号:55628、33015、29549);山羊抗小鼠二抗及山羊抗兔二抗均购自美国 Proteintech 公司(货号:SA00001-1、SA00001-2);钙离子含量检测试剂盒及总蛋白定量测试盒购自南京建成生物工程研究所;SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;Roche Cobas 8000 全自动生化分析仪购自瑞士 Roche 公司;酶标仪产自美国 Thermo 公司;透射电镜 JEM-1400flash 产自日本电子株式会社;化学发光成像分析系统 ZF-670 产自上海嘉鹏科技有限公司。

**1.3 实验分组与处理** 40 只小鼠随机分为正常对照组、模型组、IP3R 抑制剂(2-APB)组、钙离子螯合剂(BAPTA-AM)组,每组 10 只。模型组、2-APB 组、BAPTA-AM 单次腹腔注射 APAP(300 mg/kg)。注射 APAP 前 30 min,2-APB 组腹腔注射 2-APB(20 mg/kg),BAPTA-AM 组腹腔注射 BAPTA-AM(2.5 mg/kg)。腹腔注射 APAP 后,各组小鼠均禁食不禁水。APAP 造模 24 h 后,称量小鼠体质量,麻醉后摘除小鼠眼球取血,断头处死,取出肝脏。血标本室温静置 2 h,3 500 r/min 离心 15 min,制备血清,保存于 -80 °C 冰箱中。取出肝脏后,称量肝湿重,观察肝脏外观情况,剪取部分肝左叶用 4% 甲醛缓冲液固定行肝脏病理学检查;取相同部位约 1 mm<sup>3</sup> 左右的肝组织若干块,固定于 2.5% 戊二醛固定液,4 °C 冷藏,用于透射电镜观察;余肝脏组织于液氮中保存,后转移至 -80 °C 冰箱贮存。

**1.4 肝指数** 根据前述所称量的小鼠处死前体质量和肝湿重计算肝指数。肝指数(%)=(肝湿重/处死前小鼠体质量)×100%。

**1.5 肝功能指标检测** 全自动生化分析仪检测小鼠血清 ALT、AST 水平。

**1.6 肝组织病理观察** 取 4% 甲醛缓冲液固定的肝组织,予以脱水、石蜡包埋、切片和 HE 染色,光镜下观察肝组织结构。

**1.7 透射电镜超微结构观察** 2.5% 戊二醛缓冲液固定的肝脏标本,按常规透射电镜技术脱水、包埋、超薄切片、醋酸双氧铀-柠檬酸铅双染色,透射电镜

下观察切片并采集图像进行分析。

**1.8 钙离子含量测定** 取适量组织块,经去离子水中漂洗后,按 1:9 [质量(g):体积(ml)] 比例加入去离子水,制成 10% 的匀浆液,以 2 500 r/min 离心 15 min 后取上清液,采用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,按照钙测试盒说明书步骤用微板法检测钙离子含量。

**1.9 Western blot 检测肝组织中 MFN1、MFN2、GRP75、IP3R1 蛋白表达** 取适量的肝组织,提取组织总蛋白,用 BCA 法进行蛋白定量后,进行 SDS-PAGE 电泳,再转膜、封闭,将膜依次与相对应的一抗与二抗孵育。工作浓度:GAPDH 1:2 000、抗 MFN1 抗体 1:1 000、抗 MFN2 抗体 1:1 000、抗 GRP75 抗体 1:1 000、抗 IP3R1 抗体 1:1 000、二抗 1:5 000。最后,ECL 显影,Image J 软件分析所得图像,计算目标蛋白与 GAPDH 的灰度值比值。

**1.10 统计学处理** 采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肝指数变化** 模型组小鼠较正常对照组的肝湿重及肝指数均增加( $P < 0.01$ );2-APB 组及 BAPTA-AM 组小鼠较模型组的肝湿重及肝指数均降低( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 各组小鼠肝指数变化( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	体质量(g)	肝湿重(g)	肝指数(%)
正常对照	19.48 ± 0.51	0.73 ± 0.41	3.72 ± 0.23
模型	17.89 ± 0.34 <sup>##</sup>	0.89 ± 0.10 <sup>##</sup>	5.00 ± 0.56 <sup>##</sup>
2-APB	19.02 ± 0.57 <sup>△△</sup>	0.83 ± 0.05 <sup>△△</sup>	4.39 ± 0.35 <sup>△△</sup>
BAPTA-AM	18.86 ± 0.48 <sup>△△</sup>	0.82 ± 0.35 <sup>△△</sup>	4.40 ± 0.26 <sup>△△</sup>
<i>F</i> 值	19.158	12.921	19.492
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001

与正常对照组比较:## $P < 0.01$ ;与模型组比较:△△ $P < 0.01$

**2.2 肝功能变化** 与正常对照组相比,模型组小鼠 ALT、AST 水平增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。与模型组相比,2-APB 组及 BAPTA-AM 组小鼠 ALT、AST 水平降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 2。

**2.3 肝组织病理学改变** 正常对照组小鼠肝小叶结构完整,肝细胞形态正常。模型组小鼠的肝脏可见肝小叶结构紊乱,小叶中央静脉周围可见大片肝细胞坏死,并见肝窦充血及炎细胞浸润。相比于模

型组,2-APB组及BAPTA-AM组小鼠肝小叶结构尚完整,可见肝细胞变性,肝细胞坏死面积均明显减少。见图1。

表2 各组小鼠血清ALT、AST变化(U/L, n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	ALT	AST
正常对照	160.00 ± 96.26	224.00 ± 74.57
模型	7 985.00 ± 5 858.61 <sup>##</sup>	5 478.50 ± 3 920.96 <sup>##</sup>
2-APB	151.00 ± 32.81 <sup>△△</sup>	278.00 ± 92.83 <sup>△△</sup>
BAPTA-AM	162.00 ± 62.68 <sup>△△</sup>	253.00 ± 66.34 <sup>△△</sup>
F值	17.843	17.75
P值	<0.001	<0.001

与正常对照组比较: <sup>##</sup>P < 0.01; 与模型组比较: <sup>△△</sup>P < 0.01

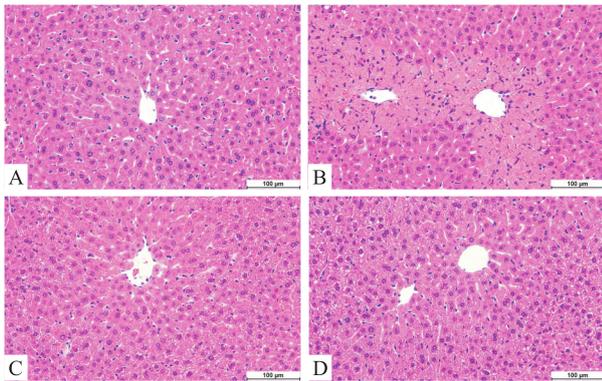


图1 各组小鼠肝组织病理学变化 HE × 200

A: 正常对照组; B: 模型组; C: 2-APB组; D: BAPTA-AM组

2.4 肝细胞超微结构变化 透射电镜下,正常对照组小鼠线粒体未肿胀,线粒体嵴完整;模型组可见线粒体肿胀,线粒体嵴结构模糊、断裂、消失,内质网肿胀断裂,MAMs数量增加;2-APB组及BAPTA-AM组线粒体肿胀程度明显减轻,部分线粒体出现嵴断裂或溶解消失,内质网结构基本完整,MAMs数量减少。见图2。

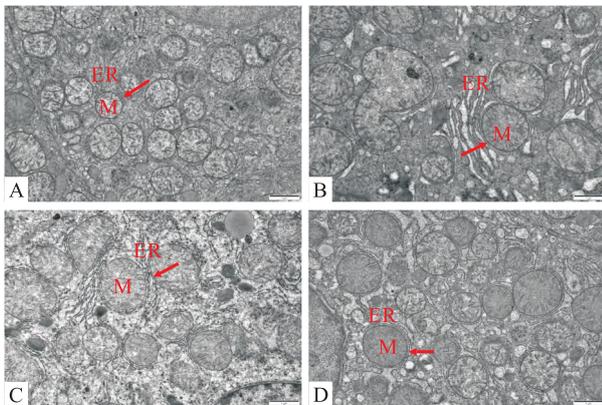


图2 各组小鼠肝脏样品电镜检查结果 × 20 000

A: 正常对照组; B: 模型组; C: 2-APB组; D: BAPTA-AM组; M: 线粒体; ER: 内质网; 红色箭头: MAMs

2.5 肝组织钙离子含量的变化 正常对照组、模型组、2-APB组和BAPTA-AM组的小鼠肝组织钙含量分别为(0.031 ± 0.011)、(0.066 ± 0.029)、(0.036 ± 0.011)和(0.040 ± 0.016) mmol/g prot,4组间方差分析结果: F = 7.476, P = 0.001。与正常对照组比较,模型组小鼠肝组织匀浆中钙离子含量增加,差异有统计学意义(P < 0.01);与模型组比较,2-APB组及BAPTA-AM组小鼠肝组织匀浆中钙离子含量均降低,差异有统计学意义(P < 0.01)。

2.6 肝组织MFN1、MFN2、GRP75、IP3R1蛋白表达情况 与正常对照组比较,模型组小鼠肝脏的MFN1、MFN2蛋白表达均减少,而IP3R1、GRP75蛋白的表达增加(P < 0.01)。与模型组比较,2-APB组及BAPTA-AM组MFN1、MFN2蛋白表达均增加,而IP3R1、GRP75蛋白的表达减少(P < 0.01)。见图3。

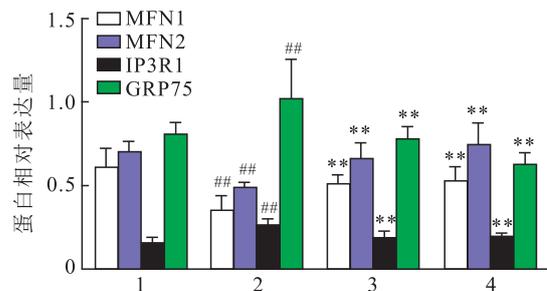
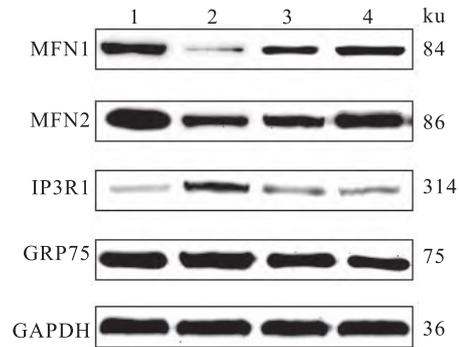


图3 各组小鼠肝组织MFN1、MFN2、IP3R1、GRP75蛋白表达情况

1: 正常对照组; 2: 模型组; 3: 2-APB组; 4: BAPTA-AM组; 与正常对照组比较: <sup>##</sup>P < 0.01; 与模型组比较: <sup>\*\*</sup>P < 0.01

### 3 讨论

APAP过量是急性肝衰竭的主要原因之一。肝细胞坏死是APAP所致肝损伤的早期表现<sup>[1]</sup>。既往研究<sup>[6]</sup>表明,单次腹腔注射APAP(300 mg/kg)24 h后小鼠血清ALT、AST可维持在较高水平,肝脏主要表现为小叶中心性坏死。本研究中,模型组小鼠较正常对照组的肝指数及肝湿重增加,ALT、AST水平

升高,肝脏可见小叶中心性坏死,提示 APAP 致小鼠肝损伤模型复制成功。

有研究<sup>[7]</sup>显示,APAP 肝损伤时线粒体和细胞核内钙水平升高,肝细胞内钙超载可能与瞬时受体电位 M2(transient receptor potential melastatin 2,TR-PM2)激活有关。MAMs 作为线粒体与内质网之间的特殊结构,通过自身数量和(或)所富集的蛋白质的变化,发挥不同的生物学功能,如调控内质网中的  $\text{Ca}^{2+}$  向线粒体转运,调控线粒体形态、内质网应激等<sup>[2-3]</sup>。IP3R 是位于内质网膜上的  $\text{Ca}^{2+}$  释放通道,电压依赖性阴离子通道 1(voltage-dependent anion channel 1,VDAC1)是位于线粒体外膜的  $\text{Ca}^{2+}$  通道,而 GRP75 作为分子伴侣连接 IP3R 和 VDAC1<sup>[8]</sup>。IP3R 与 GRP75 结合介导内质网释放  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  通过位于 MAMs 的复合物 IP3R-GRP75-VDAC1 进入线粒体<sup>[2-3,8]</sup>。干扰 GRP75 可影响 GRP75-IP3R 的相互作用从而影响 MAMs<sup>[9]</sup>。IP3R 有 3 个亚型,分别是 IP3R1、IP3R2、IP3R3,非酒精性脂肪性肝炎患者肝脏 IP3R1 表达上调<sup>[3]</sup>。在线粒体融合过程, MFN1 或 MFN2 形成同型或异型复合物,促进线粒体融合、MAMs 稳定和  $\text{Ca}^{2+}$  的转运<sup>[2]</sup>。本研究显示,与正常对照组相比,模型组小鼠肝细胞线粒体嵴断裂、消失,内质网肿胀断裂;MAMs 数量增加;肝脏组织中  $\text{Ca}^{2+}$  含量较正常对照组增加;MFN1、MFN2 蛋白的表达水平降低( $P < 0.01$ ),IP3R1 蛋白及 GRP75 蛋白的表达水平增加,提示 IP3R- $\text{Ca}^{2+}$  途径的增强、MAMs 及其相关蛋白表达异常参与了 APAP 所致的肝损伤过程。

2-APB 具有多种生物活性,通过抑制 IP3R 和钙库操纵的钙离子内流(store-operated calcium entry, SOCE)通道降低细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平和细胞器之间  $\text{Ca}^{2+}$  的移动<sup>[10]</sup>。2-APB 可以减轻 APAP 所致肝损伤<sup>[4]</sup>。BAPTA-AM 可通过减轻细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  超载起到保护细胞作用<sup>[5]</sup>。本研究显示,与模型组比较,2-APB 组及 BAPTA-AM 组小鼠血清 ALT、AST 水平下降,光镜下肝脏病理变化明显改善。2-APB 的作用与文献<sup>[4]</sup>报道相似。表明 2-APB 及 BAPTA-AM 均具有保护 APAP 所致肝损伤的作用,提示抑制 IP3R- $\text{Ca}^{2+}$  途径可以减轻 APAP 所致的肝损伤。其机制可能有以下 2 种:①降低肝脏  $\text{Ca}^{2+}$  含量超载改善线粒体、内质网损伤;钙离子超载可以影响线粒体的结构和功能<sup>[11]</sup>,并与 APAP 所致的肝损伤有关<sup>[7]</sup>。本研究显示,与模型组比较,2-APB 组及 BAPTA-AM 组小鼠肝组织匀浆中  $\text{Ca}^{2+}$  含量减少、肝脏线粒体及内

质网病理变化减轻。提示 2-APB 及 BAPTA-AM 可通过降低肝脏  $\text{Ca}^{2+}$  超载、改善线粒体及内质网损伤保护 APAP 所致的肝损伤。②影响 MAMs 结构及其相关蛋白的表达:MAMs 通过其自身结构和所募集蛋白的变化参与钙平衡、线粒体功能、内质网应激和细胞死亡等的调控<sup>[2-3]</sup>。抑制 GRP75 的表达可减低以 VDAC1/IP3R1(IP3R1)标志的 HuH7 细胞 MAMs 数量;增强 GRP75 表达则作用相反<sup>[12]</sup>。文献报道,APAP 中毒可导致小鼠肝脏线粒体 MFN2 蛋白水平下降<sup>[13]</sup>;酒精性肝损伤大鼠肝脏存在线粒体功能异常和 MFN2 蛋白表达下调<sup>[14]</sup>。本研究显示,与模型组比较,2-APB 组及 BAPTA-AM 组小鼠 MAMs 数量减少,MFN1、MFN2 蛋白表达水平上调,IP3R1 及 GRP75 蛋白表达水平降低。提示 2-APB 和 BAPTA-AM 可以通过改变 MAMs 数量、抑制 IP3R1 及 GRP75 和上调 MFN1、MFN2 蛋白表达减轻 APAP 所致的肝损伤,确切机制有待进一步探讨。

#### 参考文献

- [1] Cai X, Cai H, Wang J, et al. Molecular pathogenesis of acetaminophen-induced liver injury and its treatment options[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2022, 23(4):265-85.
- [2] Wang Y, Zhang X, Wen Y, et al. Endoplasmic reticulum-mitochondria contacts: A potential therapy target for cardiovascular remodeling-associated diseases[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:774989.
- [3] Jin C, Kumar P, Gracia-Sancho J, et al. Calcium transfer between endoplasmic reticulum and mitochondria in liver diseases[J]. *FEBS Lett*, 2021, 595(10):1411-21.
- [4] Du K, Williams C D, McGill M R, et al. The gap junction inhibitor 2-aminoethoxy-diphenyl-borate protects against acetaminophen hepatotoxicity by inhibiting cytochrome P450 enzymes and c-jun N-terminal kinase activation[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 273(3):484-91.
- [5] Fu Z, Fan Q, Zhou Y, et al. Elimination of intracellular calcium overload by BAPTA-AM-loaded liposomes: A promising therapeutic agent for acute liver failure[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(43):39574-85.
- [6] 刘晓庆,鲁桓兵,刘瑞雪,等. Bruton 酪氨酸激酶在对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝损伤中变化及意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(8):1180-4
- [7] McGill M R, Hinson J A. The development and hepatotoxicity of acetaminophen: reviewing over a century of progress[J]. *Drug Metab Rev*, 2020, 52(4):472-500.
- [8] Liu Y, Ma X, Fujioka H, et al. DJ-1 regulates the integrity and function of ER-mitochondria association through interaction with IP3R3-Grp75-VDAC1[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(50):25322-8.
- [9] D'Elletto M, Rossin F, Occhigrossi L, et al. Transglutaminase

- type 2 regulates ER-mitochondria contact sites by interacting with GRP75[J]. *Cell Rep*, 2018,25(13):3573–81.
- [10] Rosalez M N, Estevez-Fregoso E, Alatorre A, et al. 2-aminoethyl-diphenyl borinate: A multitarget compound with potential as a drug precursor[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2020,13(1):57–75.
- [11] Bravo-Sagua R, Parra V, López-Crisosto C, et al. Calcium transport and signaling in mitochondria[J]. *Compr Physiol*, 2017,7(2):623–34.
- [12] Bassot A, Prip-Buus C, Alves A, et al. Loss and gain of function of Grp75 or mitofusin 2 distinctly alter cholesterol metabolism, but all promote triglyceride accumulation in hepatocytes[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*,2021,1866(12):159030.
- [13] 李林林. 调控线粒体分裂-融合机制保护对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤的实验研究[D]. 济南:山东大学,2021.
- [14] Zhao H, Liu S, Zhao H, et al. Protective effects of fucoidan against ethanol-induced liver injury through maintaining mitochondrial function and mitophagy balance in rats[J]. *Food Funct*, 2021,12(9):3842–54.

## The effects of inhibition of the IP3R-Ca<sup>2+</sup> pathway in APAP-induced liver injury and mitochondrial-associated endoplasmic reticulum membranes

Xu Wangting, Song Yulin

(Dept of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, The Key Laboratory of Digestive Disease of Anhui Province, Hefei 230022)

**Abstract Objective** To explore the effects of inhibition of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (IP3R)-Ca<sup>2+</sup> pathway on acetaminophen (APAP)-induced liver injury in mice and its mitochondrial-associated endoplasmic reticulum membranes (MAMs). **Methods** 40 SPF-rated male C57BL/6 mice were randomly divided into control group ( $n = 10$ ), model group ( $n = 10$ ), IP3R inhibitor (2-aminoethoxydiphenyl borate, 2-APB) group ( $n = 10$ ) and the Ca<sup>2+</sup> chelator [1,2-bis(2-aminophenoxy) ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid, BAPTA-AM] group ( $n = 10$ ). Mice in the model group, 2-APB group, and BAPTA-AM group were given a single intraperitoneal injection of APAP (300 mg/kg). Half an hour before APAP injection, mice in the 2-APB group were injected intraperitoneally with 2-APB (20 mg/kg) and mice in the BAPTA-AM group were injected intraperitoneally with BAPTA-AM (2.5 mg/kg). The mice in each group were executed 24 hours after intraperitoneal injection of APAP. Serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were measured by chemical method. The pathological change of liver was observed by HE staining. The ultrastructural changes of mitochondria, endoplasmic reticulum and MAMs in liver cells were observed by transmission electron microscopy. The changes of Ca<sup>2+</sup> in liver tissue homogenate were measured by calcium assay kit. The protein expression levels of mitofusin 1 (MFN1), mitofusin 2 (MFN2), inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (IP3R1), glucose regulated protein 75 (GRP75) were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the serum ALT and AST in the model group increased ( $P < 0.01$ ). Disorganized hepatocyte arrangement, hepatocyte degeneration and lobular central necrosis were observed. Breakage and disappearance of mitochondrial cristae, swelling and fracture of the endoplasmic reticulum and increase of the number of MAMs were also observed by transmission electron microscopy. The Ca<sup>2+</sup> level in liver tissue homogenate increased ( $P < 0.01$ ). MFN1 and MFN2 protein expression decreased ( $P < 0.01$ ), IP3R1 and GRP75 protein expression increased ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the serum ALT and AST in 2-APB group and BAPTA-AM group decreased ( $P < 0.01$ ), the liver pathological changes were significantly improved, MAMs decreased, the content of Ca<sup>2+</sup> in liver homogenate decreased ( $P < 0.01$ ), MFN1 and MFN2 protein expression increased ( $P < 0.01$ ), IP3R1 and GRP75 protein expression decreased ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Inhibition of the IP3R-Ca<sup>2+</sup> pathway protects against APAP-induced liver injury in mice. Its mechanism is related to reducing hepatic Ca<sup>2+</sup> levels, reducing the number of MAMs, and regulating the expression of MAMs-related proteins.

**Key words** acetaminophen; liver injury; 2-aminoethoxydiphenylborate; 1,2-bis(2-aminophenoxy) ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid; inositol 1,4,5-trisphosphate receptor; calcium ion; mitochondrial-associated endoplasmic reticulum membranes