茯苓酸通过激活 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路抑制铁死亡改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性

蔺润岑[1]，黄雅馨[1]，赵　涵[1]，张　聪[1, 2*]

1. 三峡大学医学院，湖北 宜昌　443002
2. 肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室，湖北 宜昌　443002

摘　要：目的　探究茯苓酸改善果糖饮食诱导小鼠肝脏脂肪变性的作用及其机制。**方法**　将 48 只雄性 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组、非诺贝特（50 mg/kg）组及茯苓酸低、高剂量（25、50 mg/kg）组和茯苓酸（50 mg/kg）＋核因子 E2 相关因子 2（nuclear factor erythroid 2-related factor 2，Nrf2）抑制剂 ML385（30 mg/kg）组。对照组小鼠正常饮水，其余各组小鼠均给予 30%果糖水溶液饲养，同时非诺贝特组和茯苓酸低、高剂量组小鼠分别 ig 相应药物治疗，茯苓酸＋ML385 组小鼠在 ig 茯苓酸的同时 ip ML385 干预，1 次/d，连续给药 8 周。实验结束后收集各组小鼠血清和肝脏样本，记录小鼠体质量和肝脏质量，计算肝脏指数；检测各组小鼠血清中天冬氨酸氨基转移酶（aspartate aminotransferase，AST）、丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase，ALT）活力和三酰甘油（triglyceride，TG）、总胆固醇（total cholesterol，TC）、低密度脂蛋白胆固醇（low-density lipoprotein cholesterol，LDL-C）、高密度脂蛋白胆固醇（high-density lipoprotein cholesterol，HDL-C）水平；检测各组小鼠肝脏中活性氧（reactive oxygen species，ROS）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）、脂质过氧化物（lipid hydroperoxide，LPO）、谷胱甘肽（glutathione，GSH）、总超氧化物歧化酶（total superoxide dismutase，T-SOD）、总铁和亚铁离子（Fe^{2+}）的水平；苏木素-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色、油红 O 染色和 DAB 加强法普鲁士蓝染色观察肝脏组织病理学变化；采用 Western blotting 检测各组小鼠肝脏组织中 Nrf2、溶质载体家族 7 成员 11（solute carrier family 7 member 11，SLC7A11）和谷胱甘肽过氧化酶 4（glutathione peroxidase 4，GPX4）的蛋白表达。**结果**　与对照组比较，模型组小鼠体质量、肝脏质量和肝脏指数显著升高（$P<0.01$），血清 AST、ALT 活力和 TG、TC、LDL-C 水平显著升高（$P<0.01$），血清 HDL-C 水平显著降低（$P<0.01$），肝脏组织中 ROS、MDA、LPO、总铁和 Fe^{2+}的水平显著升高（$P<0.01$），肝脏 GSH 和 T-SOD 的水平显著降低（$P<0.01$），肝脏组织中 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 的蛋白表达水平显著降低（$P<0.01$），小鼠肝脏呈严重的脂肪变性并伴有大量脂质蓄积和铁沉积。与模型组比较，茯苓酸给药后显著降低小鼠体质量、肝脏质量和肝脏指数（$P<0.05$、0.01），显著降低血清 AST、ALT 活力和 TG、TC、LDL-C 水平（$P<0.01$），显著升高血清 HDL-C 水平（$P<0.01$），显著降低肝脏组织 ROS、MDA、LPO、总铁和 Fe^{2+}的水平（$P<0.05$、0.01），显著升高肝脏 GSH 和 T-SOD 的水平（$P<0.05$、0.01）。同时，茯苓酸干预能够减轻果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性、脂质蓄积和铁沉积，显著升高肝脏 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 的蛋白表达水平（$P<0.05$、0.01），且给予 Nrf2 抑制剂干预能够明显逆转茯苓酸改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的作用。**结论**　茯苓酸能够通过激活 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路抑制铁死亡，从而改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性。

关键词：茯苓酸；肝脏脂肪变性；果糖饮食；铁死亡；Nrf2/SLC7A11/GPX4 通路

中图分类号：R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2026)21 - 8525 - 11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.21.012

Pachymic acid ameliorates fructose-induced hepatic steatosis in mice by inhibiting ferroptosis via activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling

LIN Runcen[1], HUANG Yaxin[1], ZHAO Han[1], ZHANG Cong[1, 2]

1. Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China
2. Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, China Three Gorges University, Yichang 443002, China

收稿日期：2026-06-09

基金项目：湖北省教育厅科研计划项目青年人才项目（Q20241207）；中药资源与中药化学湖北省重点实验室（湖北中医药大学）开放基金重点项目（KLRCCM2501）；武当特色中药研究湖北省重点实验室（湖北医药学院）开放基金重点项目（WDCM2024001）

作者简介：蔺润岑，女，本科生，研究方向为中药药理学。E-mail: 15571718095@163.com

***通信作者：**张　聪，男，副教授，从事代谢相关疾病发生机制及药物防治研究。E-mail: zzcyyc520@126.com

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of pachymic acid ameliorating hepatic steatosis in fructose-fed mice. **Methods** A total of 48 male C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group, fenofibrate (50 mg/kg) group, pachymic acid low-, high-dose (25, 50 mg/kg) groups and pachymic acid (50 mg/kg) + nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) inhibitor ML385 (30 mg/kg) group. The mice in control group were given normal drinking water, and the mice in the other groups were fed with 30% fructose water. Meanwhile, the mice in fenofibrate group and pachymic acid low-, high-dose groups were given the corresponding drugs by gavage once a day for eight weeks, while the mice in pachymic acid + ML385 group were given pachymic acid by gavage and ML385 by intraperitoneal injection once a day for eight weeks. At the end of the experiment, serum and liver samples were collected from each group of mice, body weight and liver weight were recorded, and the liver index was calculated. The activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), as well as the levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in serum were detected. Moreover, the levels of reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), lipid hydroperoxide (LPO), glutathione (GSH), total superoxide dismutase (T-SOD), total iron and ferrous ion (Fe^{2+}) were detected in liver tissues of mice in each group. Histopathological changes in liver were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, Oil red O staining and DAB-enhanced Prussian blue staining. Western blotting was used to detect the protein expression levels of Nrf2, solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11) and glutathione peroxidase 4 (GPX4) in liver tissues of mice in each group. **Results** Compared with control group, mice in model group demonstrated markedly increased body weight, liver weight and liver index ($P < 0.01$), as well as significantly increased serum levels of AST, ALT, TG, TC and LDL-C ($P < 0.01$), while HDL-C level were markedly reduced ($P < 0.01$). In liver tissue, the levels of ROS, MDA, LPO, total iron and Fe^{2+} were markedly elevated ($P < 0.01$), the levels of GSH and T-SOD were markedly decreased ($P < 0.01$), and the protein expression levels of Nrf2, SLC7A11 and GPX4 were significantly decreased ($P < 0.01$). Meanwhile, mice in model group showed severe hepatic steatosis with extensive lipid accumulation and iron deposition. Compared with model group, pachymic acid administration markedly reduced body weight, liver weight and liver index in mice ($P < 0.05$, 0.01), and significantly decreased levels of AST, ALT, TG, TC, LDL-C in serum ($P < 0.01$), increased HDL-C level in serum ($P < 0.01$), reduced the levels of ROS, MDA, LPO, total iron and Fe^{2+} in liver tissue ($P < 0.05$, 0.01), increased the levels of GSH and T-SOD in liver tissue ($P < 0.05$, 0.01). Meanwhile, pachymic acid was able to attenuate hepatic steatosis, lipid accumulation and iron deposition, and significantly increased the protein expression levels of Nrf2, SLC7A11 and GPX4 in liver tissues ($P < 0.05$, 0.01). Intervention with Nrf2 inhibitor significantly reversed the effect of pachymic acid on improving hepatic steatosis in fructose-fed mice. **Conclusion** Pachymic acid ameliorates fructose-induced hepatic steatosis in mice by inhibiting ferroptosis via activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling.

Key words: pachymic acid; hepatic steatosis; fructose diet; ferroptosis; Nrf2/SLC7A11/GPX4 pathway

代谢功能障碍相关脂肪性肝病（metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease，MASLD），曾用名非酒精性脂肪性肝病（non-alcoholic fatty liver disease，NAFLD），是一种以肝细胞脂代谢功能紊乱导致肝脏脂肪样变性为核心特征的慢性进展性疾病，全球患病率超过 30%[1]，已成为最常见的慢性肝病。MASLD 呈渐进性发展，可由单纯脂肪变性逐步进展为代谢功能障碍相关脂肪性肝炎（metabolic dysfunction-associated steatohepatitis，MASH）、肝纤维化、肝硬化甚至肝癌[2-3]，严重威胁人类生命健康。目前临床上仍缺乏特异性有效治疗 MASLD 的药物[4]。因此，探寻有效防治 MASLD 的策略及潜在药物已经成为肝病研究领域亟待解决的关键问题。铁死亡是一种铁依赖性的程序性细胞死亡方式，已被证实与 MASLD 发生及疾病进展密切相关[5]。MASLD 患者肝脏中存在不同程度的铁代谢紊乱和过氧化物聚焦等铁死亡关键特征，且与疾病进展呈正相关[6]。研究表明，抑制铁死亡对于改善 MASLD 及相关慢性肝病具有积极作用[7-8]，提示靶向抑制铁死亡可作为防治 MASLD 的潜在策略。

茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核，是湖北省“十大楚药”道地药材和药食同源中药，具有丰富的临床药用和食品保健功效[9]。茯苓酸是茯苓中最主要的三萜类功效成分，具有调节脂代谢的作用[10-11]，且具有良好的生物安全性[12]。研究显示，茯苓酸能够通过调节肝细胞脂代谢稳态从而改善高脂饮食诱导的小鼠 MASLD[10-11]，提示其极具 MASLD 防治的前景。果糖是日常生活中广泛应用的甜味剂，被认为是比高脂饮食更应该被关注的 MASLD 诱因[13]。本课题组前期研究证实茯苓酸具有抑制铁死亡的作用[14]，但其是否能够通过抑制铁死亡改善果糖饮食诱导的小鼠 MASLD 及其机制尚不明确。因此，本研究通过果糖饮食诱导

建立小鼠 MASLD 模型，并探讨茯苓酸抑制铁死亡改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的作用及分子机制，旨在为开发茯苓及其活性成分茯苓酸应用于防治 MASLD 及其他慢性肝脏代谢性疾病提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 48 只，6 周龄，体质量（20±2）g，购自湖北省实验动物研究中心，动物生产许可证号 SCXK（鄂）2020-0018，动物质量合格证号 410983231100025051。动物饲养于日光周期为 12 h 的 SPF 级屏障环境中。动物实验经三峡大学实验动物伦理委员会批准（批准号 2024020K2）。

1.2 药品与试剂

果糖（质量分数≥99%，批号 F108331）、茯苓酸（质量分数≥98%，批号 P655721）、非诺贝特（质量分数≥98%，批号 F129682）、Nrf2 抑制剂（ML385，质量分数≥99%，批号 M304758）购自上海阿拉丁科技有限公司；丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase，ALT）试剂盒（批号 20240226）、天冬氨酸氨基转移酶（aspartate aminotransferase，AST）试剂盒（批号 20240211）、总胆固醇（total cholesterol，TC）试剂盒（批号 20250911）、三酰甘油（triglyceride，TG）试剂盒（批号 20251020）、高密度脂蛋白胆固醇（high-density lipoprotein cholesterol，HDL-C）试剂盒（批号 20250618）、低密度脂蛋白胆固醇（low-density lipoprotein cholesterol，LDL-C）试剂盒（批号 20251221）、活性氧（reactive oxygen species，ROS）试剂盒（批号 20250712）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）试剂盒（批号 20250515）、脂质过氧化物（lipid hydroperoxide，LPO）试剂盒（批号 20250924）、谷胱甘肽（glutathione，GSH）试剂盒（批号 20260422）、总超氧化物歧化酶（total superoxide dismutase，T-SOD）试剂盒（批号 20260317）、组织铁测定试剂盒（批号 20250812）购自南京建成生物工程研究所；亚铁离子（Fe^{2+}）含量检测试剂盒（批号 BC5415）购自北京索莱宝科技有限公司；苏木素-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色试剂盒（批号 2009E045）、油红 O 染色试剂盒（批号 2505E032）、DAB 增强型普鲁士蓝染色试剂盒（批号 2503E044）、磷酸盐缓冲液（TBST，批号 2504G004）、5×蛋白上样缓冲液（批号 CR2503006）、快速高分辨电泳缓冲液（批号 2504M004）、免冰浴快速转膜缓冲液（批号 2504M002）、通用型组织固定液（批号 G1101）、OCT 包埋剂（CR2407118）、无蛋白快速封闭液（批号 2504G013）、BCA 蛋白定量试剂盒（批号 CR2407014）、RIPA 裂解液（CR241210）、SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒（批号 CR2504105）、预染蛋白 Marker（批号 GC2509064）购自武汉赛维尔生物科技有限公司；蛋白酶抑制剂混合物（批号 331322）购自北京康为世纪生物科技有限公司；ECL 发光液（批号 3A11001）购自上海雅酶生物医药科技有限公司；核因子 E2 相关因子 2（nuclear factor erythroid 2-related factor 2，Nrf2）兔单克隆抗体（批号 P24JU08）购自成都正能生物技术有限公司；溶质载体家族 7 成员 11（solute carrier family 7 member 11，SLC7A11）兔单克隆抗体（批号 AWA10085）、谷胱甘肽过氧化酶 4（glutathione peroxidase 4，GPX4）兔单克隆抗体（批号 AWA12702）、β-actin 兔单克隆抗体（批号 AWA80001）、HRP 标记的兔抗山羊 IgG 二抗（批号 AWS0002）购自长沙艾碧维生物科技有限公司；异氟烷（2024070701）购自深圳瑞沃德生命科技股份有限公司。

1.3 仪器

5425R 型高速冷冻离心机（德国 Eppendorf 公司）；IX73&DP80 型倒置显微镜（日本 Olympus 公司）；SuPerMax 3100 型多功能酶标仪（上海闪谱生物科技有限公司）；MA104 型电子分析天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）；B-JY88-IIN 型超声波破碎仪（上海铂温仪器有限公司）；PowerPac 型通用电泳仪、Turbo 型蛋白快速转膜仪（美国 Bio-Rad 公司）；D2060R 型流式细胞仪（美国 Agilent 公司）；G:BOX-F3 型凝胶成像系统（英国 Syngene 公司）。

2 方法

2.1 动物分组、造模与给药

48 只雄性 C57BL/6 小鼠适应性喂养 1 周后，随机分为对照组、模型组、非诺贝特（50 mg/kg）组及茯苓酸低、高剂量（25、50 mg/kg）[14]组和茯苓酸（50 mg/kg）＋ML385（30 mg/kg）组[14]，每组 8 只。根据课题组前期研究复制果糖饮食诱导的小鼠 MASLD 模型[15]，发现果糖饮食小鼠血脂紊乱（表现为血清 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平异常），肝脏组织学呈脂肪样变性，表明小鼠 MASLD 模型复制成功。对照组小鼠正常饮水，其余各组小鼠均

给予 30%果糖水溶液饲养。同时非诺贝特组和茯苓酸低、高剂量组小鼠 ig 相应药物治疗；茯苓酸＋ML385 组小鼠 ip ML385，0.5 h 后 ig 茯苓酸治疗；对照组和模型组给予等体积的生理盐水，1 次/d，连续给药 8 周。

2.2　肝脏指数的测定

末次给药后禁食 12 h，称量并记录各组小鼠体质量，使用 3%异氟烷将小鼠麻醉后处死，取肝脏并称定质量，计算肝脏指数。

肝脏指数＝肝脏质量/小鼠体质量

2.3　血清生化指标的检测

末次给药后禁食 12 h，通过摘眼球收集各组小鼠血液，室温下静置 20 min，然后在 4 ℃、3 000 r/min（离心半径 8 cm）条件下离心 10 min，取上层血清。根据试剂盒说明书测定各组小鼠血清中 AST、ALT 的活力及 TG、TC、LDL-C、HDL-C 的水平。

2.4　肝脏 ROS、LPO、GSH、T-SOD、总铁和 Fe^{2+} 含量的检测

取部分新鲜小鼠肝脏组织，加入适量生理盐水研磨，并将肝组织研磨液经 70 μm 细胞过滤筛滤过获得肝组织单细胞悬液。按照试剂盒说明书操作，采用流式细胞仪检测各组小鼠肝组织单细胞悬液中 ROS 水平。另取部分小鼠肝脏组织，加入适量生理盐水置于超声破碎仪中进行破碎，制备 10%的肝脏组织匀浆液，按照试剂盒说明书检测各组小鼠肝组织匀浆液中 LPO、GSH、T-SOD、总铁和 Fe^{2+}的水平。按照 BCA 蛋白定量试剂盒说明书测定肝组织匀浆中的蛋白浓度，按照肝脏组织匀浆的蛋白浓度将肝脏组织匀浆液中 LPO、GSH、T-SOD、总铁和 Fe^{2+}的水平进行归一化。

2.5　肝脏病理学染色

取部分小鼠肝组织，置于通用型组织固定液中固定过夜，将固定后的肝组织经过脱水后用石蜡进行包埋，制成 5 μm 的石蜡切片。肝组织石蜡切片脱蜡后用 HE 染色试剂盒、DAB 增强型普鲁士蓝染色试剂盒进行染色，并在显微镜下观察各组小鼠肝组织病理学变化。根据 NAFLD 活动度评分系统（NAFLD activity score，NAS）对各组小鼠肝脏脂肪变性程度进行评估：0 分，脂肪变性占比＜5%；1 分，5%≤脂肪变性占比≤33%；2 分，33%＜脂肪变性占比≤66%；3 分，脂肪变性占比＞66%[16]。

取部分通用型组织固定液中固定的肝组织，用 OCT 包埋剂包埋后在冰冻切片机上将肝组织切成 10 μm 的切片，用 ORO 染色液进行染色，并在显微镜下观察各组小鼠肝组织中脂质蓄积情况。

2.6　Western blotting 检测肝脏组织中 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达

取适量肝组织，加入适量 RIPA 裂解液和 1%蛋白酶抑制剂后用超声破碎仪破碎，提取各组小鼠肝脏组织中的总蛋白，4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min，取上清即得各组小鼠肝组织蛋白提取液。用 BCA 蛋白含量检测试剂盒测定肝组织蛋白提取液中的蛋白浓度。将 5×蛋白上样缓冲液与肝组织蛋白提取液按 1∶4 的体积比混匀后，95 ℃变性 5 min。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转至 PVDF 膜，用无蛋白快速封闭液于室温下封闭 15 min。分别加入 Nrf2、SLC7A11、GPX4、β-actin 一抗（稀释比例均为 1∶1 000），4 ℃孵育过夜；TBST 清洗 3 次，每次 10 min，加入 HRP 标记的兔抗山羊 IgG 二抗（稀释比例为 1∶6 000），室温孵育 1 h，TBST 清洗 3 次，每次 10 min。加入 ECL 发光液并运用凝胶成像分析系统成像，使用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析目标蛋白条带的灰度值，并以 β-actin 为内参计算各目的蛋白的相对表达水平。

2.7　统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0 软件对结果进行分析，实验结果计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用 t 检验，多组之间比较采用单因素方差分析。

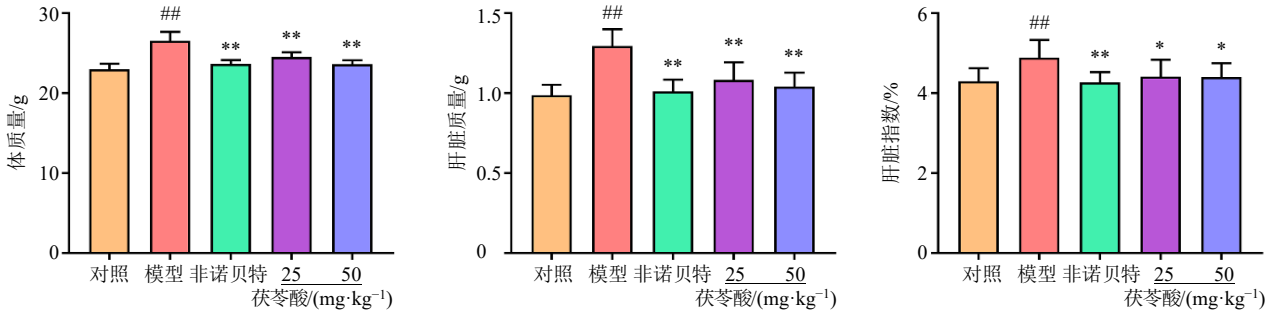
3　结果

3.1　茯苓酸对果糖饮食小鼠体质量、肝脏质量及肝脏指数的影响

如图 1 所示，与对照组比较，模型组小鼠体质量、肝脏质量及肝脏指数均显著升高（P＜0.01）；与模型组比较，非诺贝特组和茯苓酸低、高剂量组小鼠体质量、肝脏质量及肝脏指数均显著降低（P＜0.05、0.01）。

3.2　茯苓酸对果糖饮食小鼠肝功能及血脂的影响

如图 2 所示，与对照组比较，模型组小鼠血清中 AST、ALT 活力和 TG、TC、LDL-C 水平显著升高（P＜0.01），HDL-C 水平显著降低（P＜0.01）；与模型组比较，非诺贝特组和茯苓酸低、高剂量组小鼠血清 AST、ALT 活力和 TG、TC、LDL-C 水平均显著降低（P＜0.01），HDL-C 水平显著升高（P＜0.01），提示茯苓酸具有改善果糖饮食小鼠肝功能及血脂紊乱的作用。



与对照组比较：##P<0.01；与模型组比较：*P<0.05 **P<0.01，图 2～6 同。

##P < 0.01 *vs* control group; *P < 0.05 **P < 0.01 *vs* model group, same as figs. 2—6.

图 1 茯苓酸对果糖饮食小鼠体质量、肝脏质量及肝脏指数的影响（$\bar{x} \pm s$，n = 8）

Fig. 1 Effect of pachymic acid on body weight, liver weight and liver index in fructose-fed mice ($\bar{x} \pm s$, n = 8)

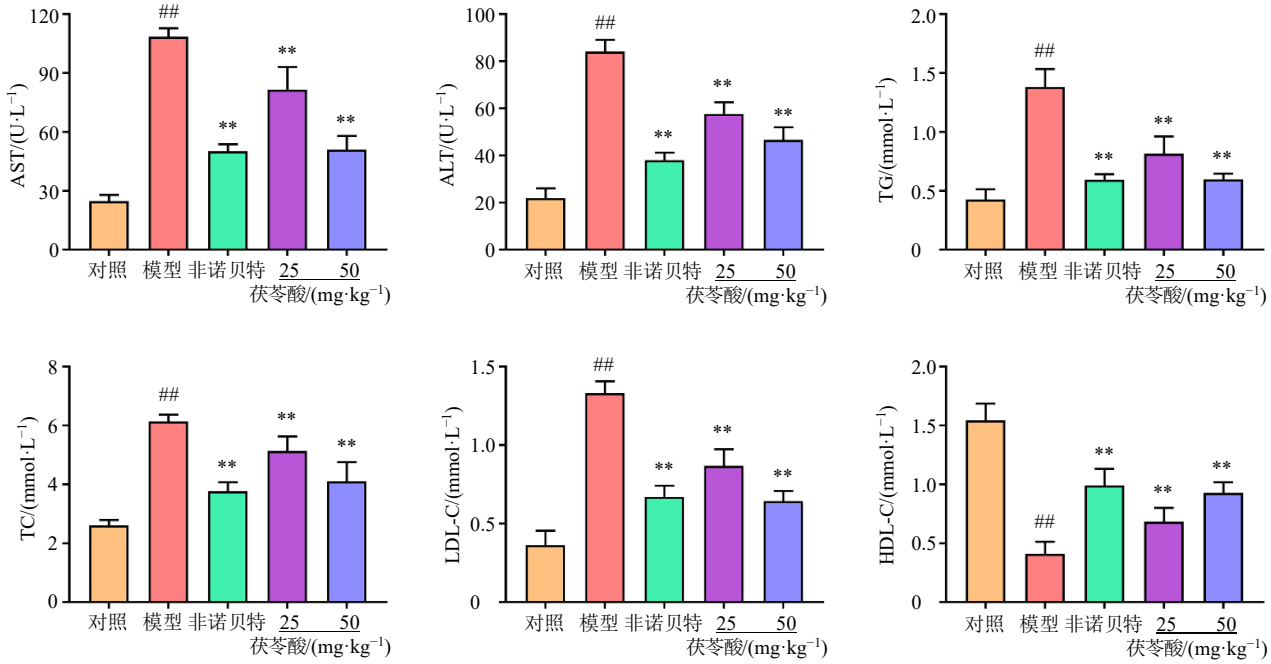


图 2 茯苓酸对果糖饮食小鼠肝功能及血脂的影响（$\bar{x} \pm s$，n = 8）

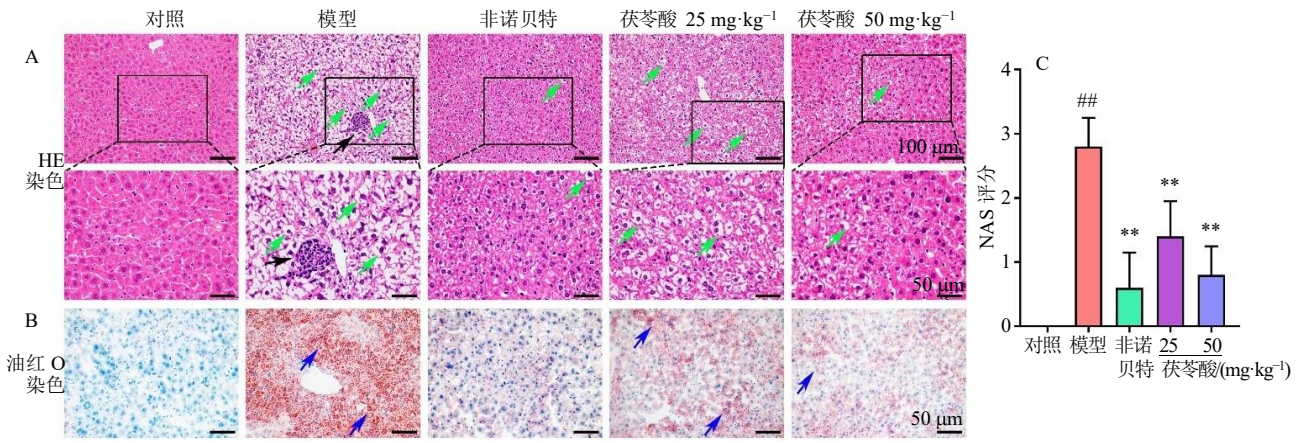
Fig. 2 Effect of pachymic acid on liver function and serum lipids in fructose-fed mice ($\bar{x} \pm s$, n = 8)

3.3 茯苓酸对果糖饮食小鼠肝脏病理学变化的影响

如图 3 所示，对照组小鼠肝组织细胞形态结构正常、排列整齐，无明显的肝细胞脂肪变性和炎性浸润；与对照组比较，模型组小鼠肝脏大量肝细胞呈明显的大泡样脂肪变性，并伴有过量脂质沉积和炎性细胞浸润，肝脏 NAS 评分显著升高（P<0.01）；与模型组比较，非诺贝特组和茯苓酸低、高剂量组小鼠肝脏脂肪变性程度明显减轻，肝脏脂质蓄积明显减少，未见明显的炎性细胞浸润，且肝脏 NAS 显著降低（P<0.01），提示茯苓酸具有改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的作用。

3.4 茯苓酸对果糖饮食小鼠肝脏氧化应激的影响

如图 4 所示，与对照组比较，模型组小鼠肝脏组织中 ROS、MDA 和 LPO 水平显著升高（P<0.01），GSH 和 T-SOD 的水平显著降低（P<0.01）；与模型组比较，非诺贝特组和茯苓酸低、高剂量组小鼠肝脏组织中 ROS、MDA 和 LPO 的水平显著降低（P<0.01），GSH 和 T-SOD 的水平显著升高（P<0.05、0.01），提示茯苓酸具有改善果糖饮食小鼠肝脏氧化应激的作用。



A-HE 染色（×100），绿色箭头表示脂肪变性，黑色箭头表示炎性细胞浸润；B-油红 O 染色（×200），蓝色箭头表示脂质沉积；C-肝脏 NAS 评分。

A-HE staining (× 100), green arrows indicate fatty degeneration, black arrows indicate inflammatory cell infiltration; B-Oil red O staining (× 200), blue arrows indicate lipid deposition; C-NAS score of liver.

图 3　茯苓酸对果糖饮食小鼠肝脏病理学变化的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 5$）

Fig. 3　Effect of pachymic acid on liver pathological changes in fructose-fed mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

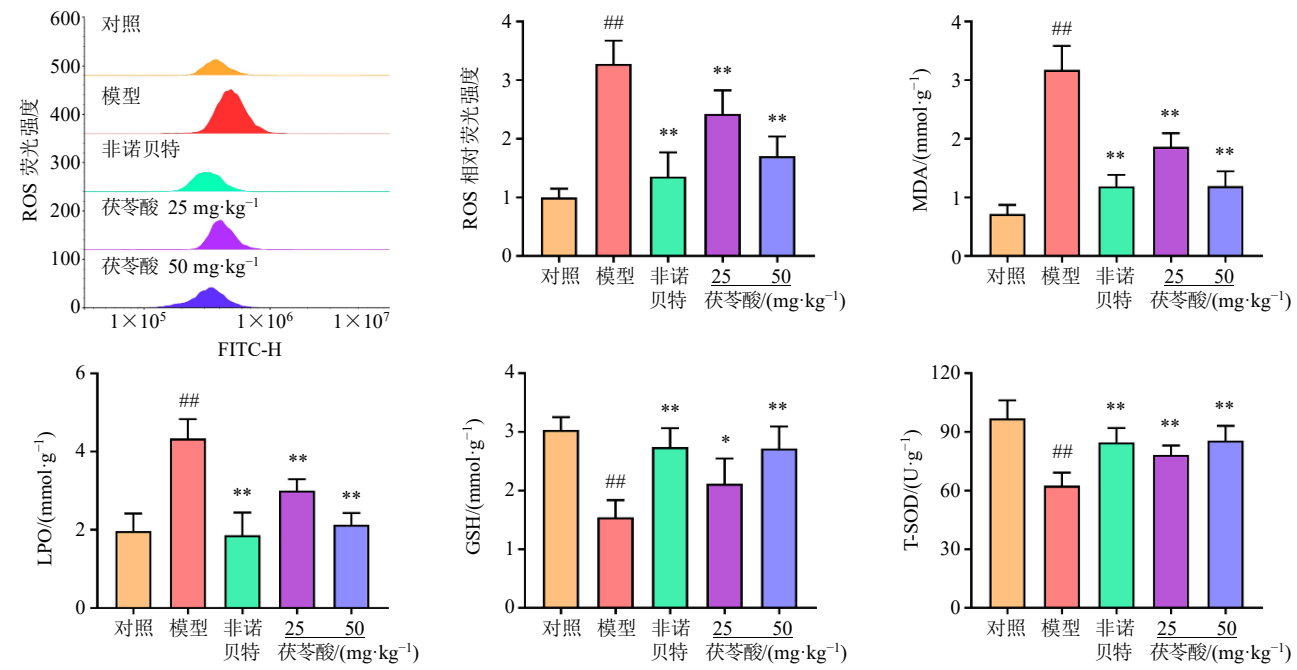


图 4　茯苓酸对果糖饮食小鼠肝脏氧化应激的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 8$）

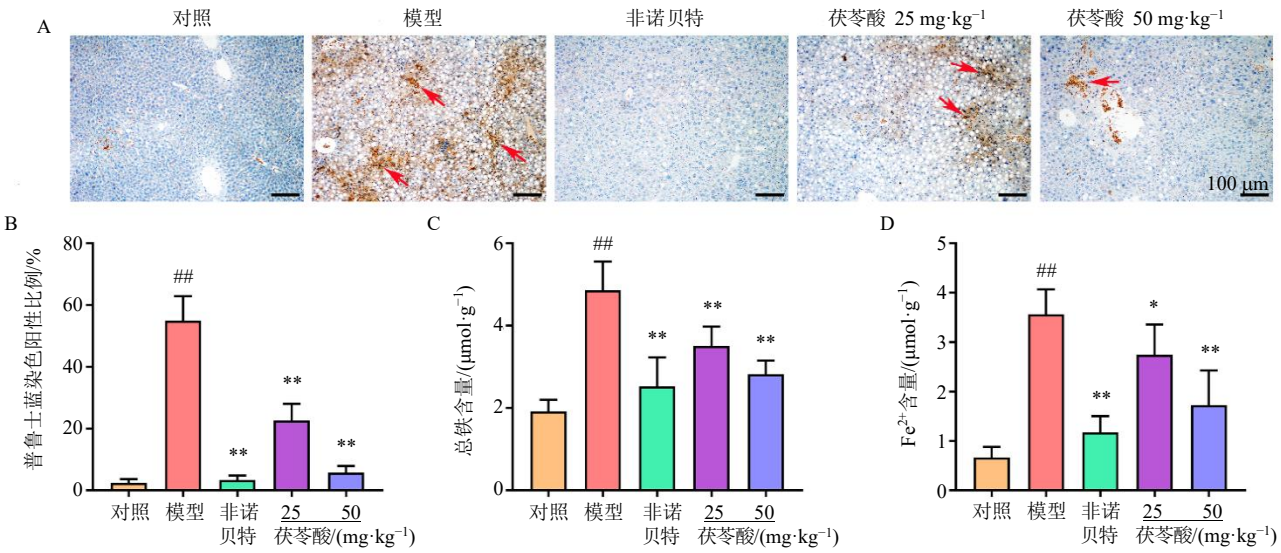
Fig. 4　Effect of pachymic acid on oxidative stress in liver of fructose-fed mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.5　茯苓酸对果糖饮食小鼠肝脏铁蓄积的影响

如图 5 所示，与对照组比较，模型组小鼠肝脏组织中大量细胞内伴有明显的铁沉积，且肝脏组织中总铁和 Fe^{2+}的含量均显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，非诺贝特组和茯苓酸低、高剂量组小鼠肝脏组织中铁沉积明显减少，且肝脏组织中总铁和 Fe^{2+}含量均显著降低（$P<0.05$、0.01），提示茯苓酸具有改善果糖饮食小鼠肝脏铁蓄积的作用。

3.6　茯苓酸对果糖饮食小鼠肝脏 Nrf2/SLC7A11/GPX4 通路相关蛋白表达的影响

研究证实，Nrf2 是细胞氧化还原稳态调控的核心转录因子，能够通过转录激活 SLC7A11 和 GPX4 从而调控铁代谢抑制细胞脂质过氧化和铁死亡[17]。课题组前期研究证实，Nrf2 是茯苓酸抗氧化和铁代谢稳态调节的关键分子靶点。因此，进一步探讨茯苓酸对果糖饮食小鼠肝脏 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4



A-肝组织切片普鲁士蓝染色图像（×100），红色箭头表示铁沉积；B-肝组织切片普鲁士蓝染色阳性比例；C-肝组织中总铁含量；D-肝组织中 Fe^{2+}的含量。

A-Prussian blue-staining images of liver section (× 100), red arrow indicates iron deposition; B-positive rate of Prussian blue staining in liver section; C-total iron content in liver tissues; D-Fe^{2+} content in liver tissues.

图 5　茯苓酸对果糖饮食小鼠肝脏铁蓄积的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 8$）

Fig. 5　Effect of pachymic acid on liver iron overload in fructose-fed mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

的蛋白表达的影响。如图 6 所示，与对照组比较，模型组小鼠肝脏组织中 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 的蛋白表达水平均显著降低（$P<0.01$）；与模型组比较，茯苓酸低、高剂量组小鼠肝脏组织中 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$、0.01），提示茯苓酸能够通过激活 Nrf2/SLC7A11/GPX4 通路从而抑制果糖饮食小鼠肝脏铁死亡。

3.7　Nrf2 抑制剂对茯苓酸改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的影响

为了进一步明确激活 Nrf2 抑制铁死亡在茯苓酸改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性中的作用，在给予茯苓酸治疗的同时给予 Nrf2 抑制剂 ML385 干预，进一步确证茯苓酸改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的作用机制。如图 7-A、B 所示，与模型组比较，茯苓酸高剂量组小鼠肝脏组织 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平显著升高（$P<0.01$）；与茯苓酸高剂量组比较，茯苓酸＋ML385 组小鼠肝脏组织中 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平显著降低（$P<0.01$）。病理学染色（图 7-C、D）和血脂指标（图 7-E～H）检测结果显示，与模型组比较，茯苓酸高剂量组小鼠肝脏未见明显的肝脏脂肪变性和脂质蓄积，血清 TG、TC、LDL-C 水平显著降低（$P<0.01$），HDL-C 水平显著升高（$P<0.01$）；

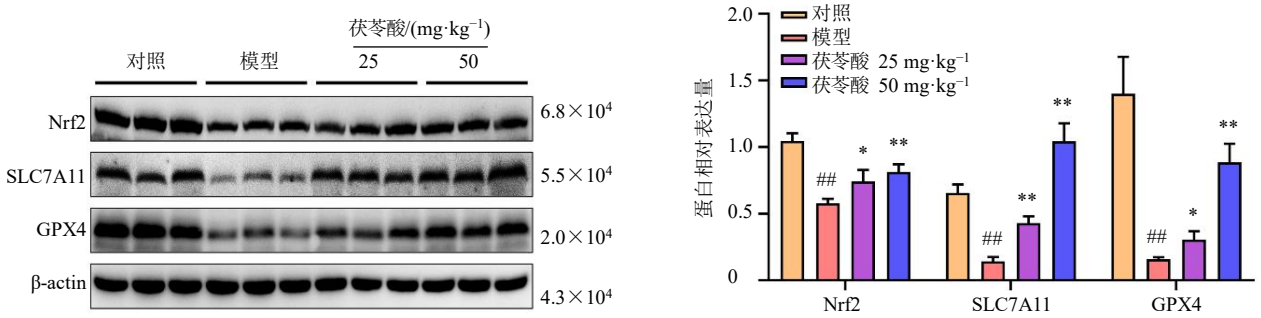
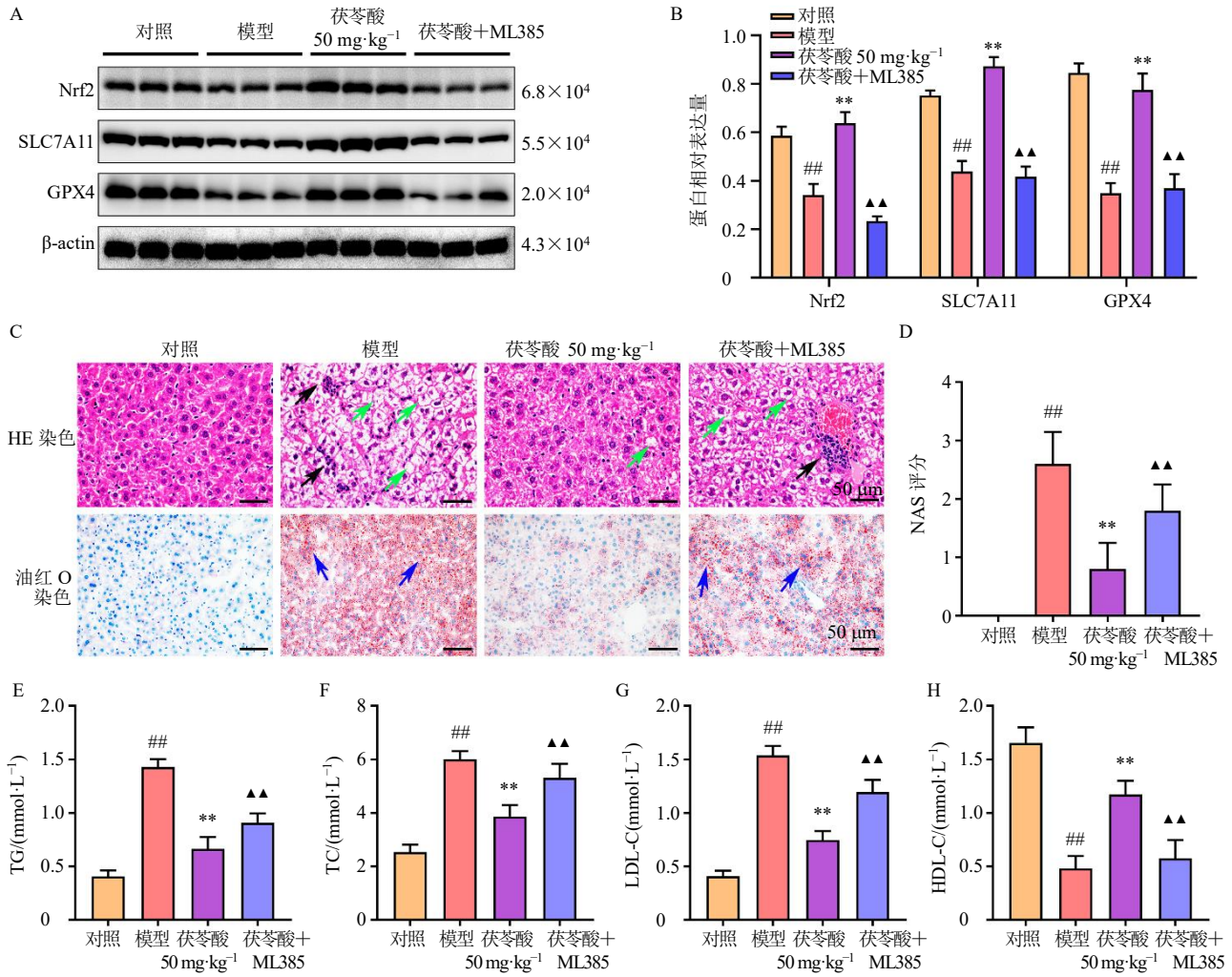


图 6　茯苓酸对果糖饮食小鼠肝脏 Nrf2/SLC7A11/GPX4 通路相关蛋白表达的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）

Fig. 6　Effect of pachymic acid on expressions of proteins associated with Nrf2/SLC7A11/GPX4 pathway in liver of fructose-fed mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



A、B-Western blotting 检测小鼠肝脏组织 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达；C-肝脏 HE 染色（×200）和油红 O 染色（×200），绿色箭头表示脂肪变性，黑色箭头表示炎性细胞浸润，蓝色箭头表示脂质沉积；D-肝脏 NAS 评分；E～H-各组小鼠血清中 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平；与对照组比较：$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较：$^{**}P<0.01$；与茯苓酸高剂量组比较：▲▲$P<0.01$。

A, B-protein expressions of Nrf2, SLC7A11 and GPX4 in liver tissue of mice detected by Western blotting; C-HE staining (× 100) and Oil red O staining (× 200) of liver, green arrows indicate fatty degeneration, black arrows indicate inflammatory cell infiltration, blue arrows indicate lipid deposition; D-NAS score of liver; E—H-levels of TG, TC, LDL-C and HDL-C in serum of mice in each group; $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control group; $^{**}P < 0.01$ *vs* model group; ▲▲$P < 0.01$ *vs* pachymic acid high-dose group.

图 7　Nrf2 抑制剂对茯苓酸改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 8$）

Fig. 7　Effect of Nrf2 inhibitor on pachymic acid ameliorates hepatic steatosis in fructose-fed mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

与茯苓酸高剂量组比较，茯苓酸＋ML385 组小鼠肝脏呈明显的空泡样脂肪变性，并伴有大量脂质沉积，且血清 TG、TC、LDL-C 水平显著升高（$P<0.01$），HDL-C 水平显著降低（$P<0.01$）。提示 Nrf2 抑制剂干预诱导铁死亡能够逆转茯苓酸改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的作用。

4　讨论

果糖作为一种天然单糖，是日常生活中最常用的甜味剂高果糖玉米糖浆的主要成分，由于具有甜度高和商业成本低的特点而在现代饮食结构中扮演着极为重要的角色。根据世界卫生组织发布的《成人和儿童糖摄入量指南》和中国营养学会发布的《中国居民膳食指南》[18-19]，成年人每日添加糖摄入量应低于每日总能量摄入的 10%，控制在 5% 以内更有利于健康，但是在常见的西方饮食中，膳食果糖提供的能量已经超过每日摄入总能量的 15%[20]。因此，随着全球软饮料以及高果糖玉米糖浆的过度消费，长期或过量的果糖摄入已经成为了人类健康的甜蜜负担，尤其是其对 MASLD 等代谢性疾病的影响已经成为全球正面临的健康挑战[21]。

近年来全球果糖消费量急剧攀升，且与青少年和儿童肥胖及 MASLD 等代谢性疾病患病风险增加高度相关[22-23]。因此，需高度关注日常生活中长期或过量摄入果糖对机体代谢健康的潜在危害。

肝脏作为机体能量代谢调节的中枢器官，在维持能量代谢稳态中发挥着至关重要的作用[24]。果糖几乎全部在肝脏代谢。膳食摄入果糖后通过肠道吸收，并经门静脉直接进入肝脏，随后在肝脏果糖激酶的作用下代谢转化为中间产物，最终为肝脏脂肪酸从头合成提供底物诱发肝脏代谢紊乱[25]。研究证实，长期或过量摄入果糖能够导致肝脏脂代谢功能紊乱从而驱动 MASLD 发生[26-27]，这一点在课题组前期研究中也得到证实[15,28-29]。研究显示高果糖摄入还能够通过诱导脂质过氧化并耗竭 GSH 从而促进肝细胞铁超载和铁死亡[30]，这一点在临床人群研究中也得到证实[31]。肝脏是铁存储和铁代谢的关键器官，极易受到铁代谢稳态失衡的影响。研究显示，铁死亡作为一种铁依赖性的脂质过氧化驱动的新型细胞程序性死亡方式，与 MASLD 及相关慢性肝病进展密切相关[5]，而铁死亡抑制剂或抑制铁死亡在 MASLD 治疗中的潜力已得到充分认可[7-8,32]。提示靶向抑制铁死亡可作为防治 MASLD 的关键策略。

“药食同源”理论自古以来就是中国传统医学防治代谢性疾病的有力工具，可作为临床实践中防治代谢性疾病的有效策略[33]。近年来，随着饮食相关的慢性疾病蔓延全球，越来越多的国家也开始尝试“食物即药物”的干预措施，来帮助患者和医生更好地控制慢性疾病[34-35]。因此，以食品来源的活性分子作为潜在治疗药物的方法被认为是治疗代谢紊乱相关疾病的新策略[36]。茯苓为多孔菌科真菌茯苓的干燥菌核，是药食同源中药和湖北省“十大楚药”，具有丰富的临床药用和食品保健功效。研究显示，茯苓具有调血脂、抗炎、抗氧化等药理学活性，对于防治肥胖、MASLD 等代谢性疾病具有积极作用[37-38]。茯苓酸是茯苓中主要的三萜类功效成分，具有调节脂代谢、抗炎的作用[39-40]，且安全性高[12]。提示茯苓酸具有防治 MASLD 的潜能。课题组前期研究证实茯苓酸具有抑制铁死亡的作用[14]，但其是否能够通过抑制铁死亡改善果糖饮食诱导的小鼠 MASLD 及其机制尚不明确。因此，本研究评估了茯苓酸抑制铁死亡改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的作用及分子机制。结果显示，茯苓酸能够改善果糖饮食小鼠血脂紊乱和肝功能异常，并减轻肝脏脂肪变性、氧化应激和炎症反应，表明茯苓酸具有改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的作用。此外，果糖饮食小鼠肝脏伴随着大量铁沉积，且肝脏总铁和 Fe^{2+}含量均显著升高，而茯苓酸治疗后能够显著降低果糖饮食小鼠肝脏铁超载。机制上，GPX4 是谷胱甘肽过氧化物酶家族中最重要的铁死亡调节因子之一，能够协同 SLC7A11 催化脂质过氧化物的还原，对维持细胞内脂质过氧化和铁代谢稳态至关重要[41-42]。Nrf2 作为细胞氧化还原稳态调控的核心转录因子，能够通过转录激活 SLC7A11 和 GPX4 从而调控铁代谢抑制细胞脂质过氧化和铁死亡[17]。研究显示，在 MASLD 疾病进展过程中肝脏 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路往往失活并伴随着铁代谢紊乱和铁死亡，而激活 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路抑制铁死亡对于防治 MASLD 具有积极作用[43-44]。提示靶向激活 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路抑制铁死亡可作为防治 MASLD 的关键分子靶标。课题组前期研究证实，Nrf2 是茯苓酸的直接作用靶点，其能够靶向激活 Nrf2 抵御细胞脂质过氧化并抑制铁死亡。本研究发现茯苓酸治疗能够升高果糖饮食小鼠肝脏 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 蛋白的表达水平，并降低肝脏 ROS、MDA 及脂质过氧化物的含量，抑制果糖诱导的小鼠肝脏铁死亡。而 Nrf2 抑制剂干预后能够逆转茯苓酸抑制铁死亡改善果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性的作用。以上结果表明茯苓酸改善高果糖饮食小鼠肝脏脂肪变性与促进肝脏 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号活化抑制铁死亡密切相关。

综上，茯苓酸对果糖饮食诱导的小鼠肝脏脂肪变性具有改善作用，其作用机制与激活 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路抑制铁死亡有关。同时，本研究提示膳食补充茯苓或茯苓酸及对于防治 MASLD 及其他慢性肝脏代谢性疾病具有重要的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Miao L, Targher G, Byrne C D, *et al*. Current status and future trends of the global burden of MASLD [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2024, 35(8): 697-707.

[2] Wang X B, Zhang L, Dong B N. Molecular mechanisms in MASLD/MASH-related HCC [J]. *Hepatology*, 2025, 82(5): 1303-1324.

[3] He Y Y, Su Y H, Duan C C, *et al*. Emerging role of aging in the progression of NAFLD to HCC [J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 84: 101833.

[4] Ratziu V, Francque S, Sanyal A. Breakthroughs in therapies for NASH and remaining challenges [J]. *J Hepatol*, 2022, 76(6): 1263-1278.

[5] Cui S J, Ye J. MAFLD: A ferroptotic disease [J]. *Trends Mol Med*, 2026, 32(3): 284-294.

[6] Tao L, Yang X Q, Ge C D, *et al*. Integrative clinical and preclinical studies identify ferroterminator1 as a potent therapeutic drug for MASH [J]. *Cell Metab*, 2024, 36(10): 2190-2206.

[7] Tong J, Lan X T, Zhang Z, *et al*. Ferroptosis inhibitor liproxstatin-1 alleviates metabolic dysfunction-associated fatty liver disease in mice: Potential involvement of PANoptosis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(5): 1014-1028.

[8] Shao T, Chung R T. Ironing out MAFLD: Therapeutic targeting of liver ferroptosis [J]. *Cell Metab*, 2024, 36(10): 2167-2169.

[9] 冯雪, 郭晓松, 谢菲, 等. 茯苓化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2026, 57(5): 1947-1957.

[10] Ren G L, Lin Y Y, Fu Y L, *et al*. Multi-omics joint analysis: Pachymic acid ameliorated non-alcoholic fatty liver disease by regulating gut microbiota [J]. *Food Res Int*, 2025, 209: 116178.

[11] Nie L J, Ma D H, Deng X K, *et al*. Pachymic acid alleviates non-alcoholic fatty liver disease via FGF21-mediated inhibition of the p38 MAPK pathway [J]. *Food Sci Nutr*, 2026, 14(5): e71855.

[12] Wang H Z, Sun X, Wei C Y, *et al*. Synthesis and bioactivity evaluation of pachymic acid derivatives as potential cytotoxic agents [J]. *Med Chem Res*, 2023, 32(2): 342-354.

[13] Jensen T, Abdelmalek M F, Sullivan S, *et al*. Fructose and sugar: A major mediator of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Hepatol*, 2018, 68(5): 1063-1075.

[14] Zhang C, Xiong Y K, Gong M Y, *et al*. Pachymic acid ameliorates fructose-driven hyperuricemic nephropathy in mice by suppressing ferroptosis via activating Nrf2/GPX-4 pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73(36): 22778-22793.

[15] Zhang C, Song Y Y, Yuan M, *et al*. Ellagitannins-derived intestinal microbial metabolite urolithin a ameliorates fructose-driven hepatosteatosis by suppressing hepatic lipid metabolic reprogramming and inducing lipophagy [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(9): 3967-3980.

[16] Kleiner D E, Brunt E M, Van Natta M, *et al*. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2005, 41(6): 1313-1321.

[17] Deng X M, Chu W M, Zhang H R, *et al*. Nrf2 and ferroptosis: A new research direction for ischemic stroke [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2023, 43(8): 3885-3896.

[18] CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Carbohydrate Intake For Adults And Children: WHO Guideline [S]. 2023.

[19] 郭长江. 中国居民膳食指南: 从营养启蒙到精准指导 [J]. 营养学报, 2025, 47(5): 420-422.

[20] Buziau A M, Eussen S J P M, Kooi M E, *et al*. Fructose intake from fruit juice and sugar-sweetened beverages is associated with higher intrahepatic lipid content: The maastricht study [J]. *Diabetes Care*, 2022, 45(5): 1116-1123.

[21] Fan Y J, Zhang Y C, Chen C L, *et al*. Fasting serum fructose is associated with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: A prospective study [J]. *Hepatol Res*, 2023, 53(6): 479-488.

[22] DiStefano J K, Shaibi G Q. The relationship between excessive dietary fructose consumption and paediatric fatty liver disease [J]. *Pediatr Obes*, 2021, 16(6): e12759.

[23] Perrar I, Buyken A E, Penczynski K J, *et al*. Relevance of fructose intake in adolescence for fatty liver indices in young adulthood [J]. *Eur J Nutr*, 2021, 60(6): 3029-3041.

[24] Jones J G. Hepatic glucose and lipid metabolism [J]. *Diabetologia*, 2016, 59(6): 1098-1103.

[25] Herman M A, Birnbaum M J. Molecular aspects of fructose metabolism and metabolic disease [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(12): 2329-2354.

[26] Ramirez C B, Ahn I S, Rubtsova V I, *et al*. Circulating glycerate predicts resilience to fructose-induced hepatic steatosis [J]. *Cell Metab*, 2025, 37(5): 1223-1234.

[27] Park S H, Helsley R N, Fadhul T, *et al*. Fructose induced KHK-C can increase ER stress independent of its effect on lipogenesis to drive liver disease in diet-induced and genetic models of NAFLD [J]. *Metabolism*, 2023, 145: 155591.

[28] Lu Y Z, Zhang C, Song Y Y, *et al*. Gallic acid impairs fructose-driven *de novo* lipogenesis and ameliorates hepatic steatosis via AMPK-dependent suppression of SREBP-1/ACC/FASN cascade [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 940: 175457.

[29] Chen L, Song Y Y, Huang Y R, *et al*. *Cornus officinalis* extract ameliorates fructose-induced hepatic steatosis in mice by sustaining the homeostasis of intestinal microecology and lipid metabolism [J]. *Food Sci Nutr*, 2025, 13(6): e70425.

[30] Wang C, Wang X, Song G Y, *et al*. A high-fructose diet in rats induces systemic iron deficiency and hepatic iron overload by an inflammation mechanism [J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(1): e13578.

[31] Harder N H O, Hieronimus B, Stanhope K L, *et al*. Effects

of dietary glucose and fructose on copper, iron, and zinc metabolism parameters in humans [J]. *Nutrients*, 2020, 12(9): 2581.

[32] Tong J, Li D J, Meng H B, *et al*. Targeting a novel inducible GPX4 alternative isoform to alleviate ferroptosis and treat metabolic-associated fatty liver disease [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(9): 3650-3666.

[33] Zhang Q, Jia Y T, Zhang Y X, *et al*. The effects of medicinal and food homologous substances on blood lipid and blood glucose levels and liver function in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review of randomized controlled trials [J]. *Lipids Health Dis*, 2023, 22(1): 137.

[34] Xie J L, Price A, Curran N, *et al*. The impact of a produce prescription programme on healthy food purchasing and diabetes-related health outcomes [J]. *Public Health Nutr*, 2021, 24(12): 3945-3955.

[35] Liu H B, Wang Y F, Huan J L, *et al*. Analysis on patents of health care products with substances of medicine food homology in China [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(3): 412-421.

[36] Liang Q, Gou H H, Chen L P, *et al*. "Food & medicine homology" medicines and their formulas: A versatile approach for the management of lipid metabolic disorders related diseases [J]. *Food Med Homol*, 2026, 3(1): 9420130.

[37] Miao H, Zhao Y H, Vaziri N D, *et al*. Lipidomics biomarkers of diet-induced hyperlipidemia and its treatment with *Poria cocos* [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(4): 969-979.

[38] He J, Yang Y, Zhang F, *et al*. Effects of *Poria cocos* extract on metabolic dysfunction-associated fatty liver disease via the FXR/PPARα-SREBPs pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2022,13:1007274.

[39] Pan Z S, Chen Y L, Tang K J, *et al*. Pachymic acid modulates sirtuin 6 activity to alleviate lipid metabolism disorders [J]. *Exp Ther Med*, 2023, 26(1): 320.

[40] Gui Y J, Sun L J, Liu R, *et al*. Pachymic acid inhibits inflammation and cell apoptosis in lipopolysaccharide (LPS)-induced rat model with pneumonia by regulating NF-κB and MAPK pathways [J]. *Allergol Immunopathol*, 2021, 49(5): 87-93.

[41] Chu L K, Cao X, Wan L, *et al*. Autophagy of OTUD5 destabilizes GPX4 to confer ferroptosis-dependent kidney injury [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 8393.

[42] Liu Y, Wan Y C, Jiang Y, *et al*. GPX4: The hub of lipid oxidation, ferroptosis, disease and treatment [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2023, 1878(3): 188890.

[43] Cui L H, Lu M H, Li W, *et al*. Hu Gan Tang ameliorates metabolic-associated fatty liver disease by inhibiting ferroptosis through the Nrf2/GPX4 pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 353(Pt A): 120342.

[44] Zhai X J, Xiao C, Yang C R, *et al*. Betaine attenuates high-fat-diet-induced metabolism-associated steatotic liver disease via the inhibition of ferroptosis through the Nrf2/GPX4 axis [J]. *FASEB J*, 2025, 39(24): e71315.

[责任编辑　李亚楠]