

基于转录组学研究野黄芩苷对代谢相关脂肪性肝病的作用及潜在机制

周建华^{1,2}, 张景正³, 舒国超^{1,2}, 黄玲^{1,2}, 谭利平^{1,2}, 陈灵³, 严宝飞^{3*}

1. 恩施土家族苗族自治州中心医院, 湖北 恩施 445000

2. 湖北民族大学附属恩施州中心医院, 湖北 恩施 445000

3. 江苏卫生健康职业学院, 江苏 南京 211800

摘要: 目的 研究野黄芩苷对代谢相关脂肪性肝病 (MAFLD) 大鼠的改善作用, 并基于转录组学探讨潜在机制。方法 将大鼠随机分为对照组、模型组和野黄芩苷低、高剂量 (50、100 mg·kg⁻¹) 组, 采用高脂饮食 (HFD) 饲喂 16 周诱导 NAFLD 大鼠模型, 从第 8 周开始按分组对应 ig 给药, 实验结束后测定体质量及肝脏指数; 采用试剂盒检测血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、总胆固醇 (TC) 和三酰甘油 (TG) 水平; 采用苏木素-伊红 (HE)、油红 O 和 Masson 染色检查肝脏病理变化; 采用转录组学技术分析肝脏基因表达。结果 与对照组比较, 模型组大鼠 16 周体质量、肝脏质量及肝脏指数明显增加 ($P < 0.01$); 血清中 ALT、AST、TC 和 TG 水平明显升高 ($P < 0.01$); 肝脏出现结构性损伤、脂肪变性及气球样变等病理改变, 红色脂滴和蓝色胶原纤维明显变多。与模型组比较, 野黄芩苷组大鼠 16 周体质量、肝脏质量及肝脏指数明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 肝损伤及血脂相关指标水平明显恢复 ($P < 0.05$ 、 0.01); 肝脏病理改变趋于正常, 红色脂滴和蓝色胶原纤维减少。转录组学结果显示, 对照组与模型组间有 622 个差异表达基因, 模型组与野黄芩苷组间有 579 个差异表达基因, 这其中有 238 个共有差异表达基因, 并调控环磷酸鸟苷 (cGMP)/蛋白激酶 G (PKG)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt)、松弛素、晚期糖基化终末产物 (AGE)-糖基化终末产物受体 (RAGE)、钙、胰岛素抵抗和 Hippo 等信号通路。结论 野黄芩苷可能通过作用于肝脏 238 个基因, 调控 cGMP/PKG、PI3K/Akt、松弛素、AGE-RAGE、钙、胰岛素抵抗和 Hippo 等信号通路发挥对 NAFLD 大鼠的改善作用。

关键词: 代谢相关脂肪性肝病; 野黄芩苷; 转录组学; 机制; 环磷酸鸟苷 (cGMP)/蛋白激酶 G (PKG); 磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt)

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 11-2338-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.11.007

Effect and potential mechanism of scutellarin on metabolic associated fatty liver disease based on transcriptomics

ZHOU Jianhua^{1,2}, ZHANG Jingzheng³, SHU Guochao^{1,2}, HUANG Ling^{1,2}, TAN Liping^{1,2}, CHEN Ling³, YAN Baofei³

1. The Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi 445000, China

2. Affiliated Enshizhou Central Hospital of Hubei Minzu University, Enshi 445000, China

3. Jiangsu Health Vocational College, Nanjing 211800, China

Abstract: Objective To investigate the effect of scutellarin on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats and to explore the underlying mechanisms based on transcriptomics. **Methods** The rats were randomly divided into control group, model group and scutellarin low- and high- dose (50 and 100 mg·kg⁻¹) groups, and the NAFLD rat model was induced by high-fat diet (HFD) feeding for 16 weeks, and the drug was administered by gavage corresponding to the group from the 8th week, and liver tissues and serum were collected at the end of the experiment. The kits were used to detect the level of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) levels. Hematoxylin-eosin (HE), oil red O and Masson staining were used to detect the pathological changes of rat liver. The gene expression of rat liver was analyzed by transcriptome technology.

收稿日期: 2023-05-19

基金项目: 江苏省卫生健康委科研项目 (Z2022078)

第一作者: 周建华, 女, 主治医师, 研究方向为中医药临床与基础研究。E-mail: 595749090@qq.com

*通信作者: 严宝飞, 男, 讲师, 研究方向为中药资源学研究。E-mail: baofei@163.com

Results Compared with the control group, the body weight, liver weight and liver index of the model group rats at 16 weeks were significantly increased ($P < 0.01$), and serum levels of ALT, AST, TC and TG were significantly increased ($P < 0.01$). The pathological changes such as structural damage, steatosis and ballooning occurred in the liver, red lipid droplets and blue collagen fibers in the liver became significantly more abundant. Compared with model group, the body weight, liver weight and liver index at 16 weeks were significantly lower in the scutellarin groups ($P < 0.05$ and 0.01), the levels of liver injury and blood lipid-related indexes were significantly restored ($P < 0.05$ and 0.01), the pathological changes of liver tend to be normal, and red lipid droplets and blue collagen fibers in the liver were significantly reduced. The transcriptome results showed that there were 622 differentially expressed genes between the control and model groups and 579 differentially expressed genes between the model and scutellarin groups, of which 238 shared differentially expressed genes and regulated cyclic guanosine monophosphate (cGMP)/protein kinase G (PKG), phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt), relaxin, advanced glycosylation end products (AGE)-receptor of AGE (RAGE), calcium, insulin resistance, and Hippo signaling pathways. **Conclusion** Scutellarin may exert its ameliorative effects on NAFLD rats by acting on 238 genes in the liver to regulate signaling pathways such as cGMP/PKG, PI3K/Akt, relaxin, AGE-RAGE, calcium, insulin resistance and Hippo.

Key words: metabolic associated fatty liver disease; scutellarin; transcriptome sequencing; mechanism; cyclic guanosine monophosphate (cGMP)/protein kinase G (PKG); phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)是一种以三酰甘油(TG)形式的脂肪过度堆积为特征的疾病。MAFLD是代谢综合征的肝脏表现,代谢综合征与多种代谢性疾病高度相关,例如高脂血症、胰岛素抵抗、高血压和2型糖尿病^[1]。MAFLD可引起各种类型的肝损伤,如肝液积聚,可单独出现或伴有炎症,伴或不伴纤维化^[2]。另外,MAFLD和高脂血症的发病率及终末期肝和心血管疾病相关性正在迅速增加^[3]。当前临床常用他汀类药物抑制肝脏中低密度脂蛋白受体的合成、进而降低胆固醇水平来治疗MAFLD^[4]。然而这类药物的降血脂能力有限,且长期高剂量的应用会引起不良反应。

野黄芩苷是从药用植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 中分离到的黄酮类成分,具有抗氧化、抗炎、保护心肌和血管松弛等多种功能^[5-7]。最近的研究强调,野黄芩苷可以调节C57BL/6J小鼠的脂质代谢并降低血脂^[8]。以野黄芩苷为主要有效成分的Erigerontis注射液可以降低缺血性脑卒中患者的胆固醇和TG,改善血液黏度^[2]。此外,野黄芩苷能够通过减轻氧化应激而对MAFLD大鼠发挥治疗作用^[2]。因此,野黄芩苷有望成为MAFLD治疗药物,深入探讨其治疗机制十分必要。生物活动的各种特性受基因的差异表达调控。转录组测序是近年来发展起来的一种全基因转录组的高通量测序技术,已成为研究MAFLD潜在治疗靶点的有力工具^[9]。因此,本研究以高脂饮食(HFD)诱导MAFLD大鼠模型结合转录组探讨野黄芩苷的改善作用及潜在机制,以期野黄芩苷用于防治MAFLD提供依据。

1 材料

1.1 动物

体质量为180~200 g的雄性SPF级SD大鼠购自杭州医学院,动物生产许可证号SCXK(浙)2019-0002。本实验在江苏卫生健康职业学院实验动物伦理委员会同意下开展实施,伦理批号为JHVC-IACUC-2021-B003。动物饲养在江苏卫生健康职业学院实验动物中心,室温22~25℃、12 h昼夜交替、55%相对湿度,自由饮水及摄食。

1.2 主要药物及试剂

野黄芩苷(质量分数≥98%),货号为B21478,购自上海源叶生物科技有限公司;实验鼠维持饲料和60%脂肪供能HFD,货号分别为SNC9147和D12492,均购自江苏省协同生物工程有限责任公司;苏木素-伊红(HE)、油红O和Masson三色染色试剂盒,货号分别为G1120、G1261和G1346,均购自北京索莱宝生物公司;天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总胆固醇(TC)和TG测试试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所;肝脏转录组测序所用试剂均由上海美吉生物医药科技有限公司提供。

1.3 主要仪器

SpectraMax iD5多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司);全自动轮转式切片机(德国Leica公司);Eclipse ci正置显微镜(日本Nikon公司);肝脏转录组测序所用仪器均由上海美吉生物医药科技有限公司提供。

2 方法

2.1 MAFLD大鼠模型的建立及分组

适应性养殖后,大鼠被随机分为4组,每组8

只:对照组、模型组和野黄芩苷低、高剂量(50、100 mg·kg⁻¹, 剂量参考课题组预试验结果及文献报道^[2]设置)组。对照组给予实验鼠维持饲料,其余各组给予HFD,饲喂16周以诱导MAFLD^[10]。从第8周开始ig给药,对照组和模型组ig给予0.9%氯化钠溶液。

2.2 取样

末次给药结束12 h期间禁食不禁水,眼眶静脉丛取血于离心管中,室温静置2 h,3 500 r·min⁻¹离心10 min后取上清,后续检测前置于-80 °C环境中保存。上述操作结束后,脱颈处死,小心剥离大鼠肝脏称质量,并计算肝脏指数(肝脏质量/体质量)。将处理好的肝脏组织一部分浸入4%的多聚甲醛中固定,用于组织切片及染色;剩余部分迅速置于液氮中速冻,置于-80 °C环境中保存用于肝脏转录组测序。

2.3 大鼠血清生化指标检测

血清中AST、ALT、TC和TG水平参照相应测试试剂盒说明书测定。

2.4 大鼠肝脏病理染色

大鼠肝脏固定24 h后参照标准操作脱水、包埋及切片后,浸入二甲苯中脱蜡,再用不同浓度乙醇进行水化,随后参照试剂盒说明书进行HE、油红O及Masson染色,最后显微镜检查并拍照。

2.5 大鼠肝脏转录组测序

取适量冻存的大鼠肝脏组织并加入10倍体积的TRIzol试剂于匀浆器中匀浆;室温静置5 min,随后4 °C、12 000 r·min⁻¹离心5 min,吸取上清液;加入适量氯仿,涡旋15 s后静置3 min,4 °C、12 000 r·min⁻¹继续离心15 min,吸取水相层转移;在水相中加入1.2倍无水乙醇提取RNA;随后加入

30~50 μL RNase-Free水,室温静置3 min,4 °C、12 000 r·min⁻¹离心1 min;利用Nanodrop2000对上述RNA样本的浓度及纯度进行检测,Agilent2100测定上述RNA样本的RIN值;利用磁珠(Oligo dT)与样本中mRNA的polyA进行碱基配对,从而分离出mRNA;加入fragmentation buffer,随机打断上述提取的mRNA,导入Illumina平台;在逆转录酶的作用下,将mRNA依次合成一链及二链;随后进行PCR扩增,得到最终文库,于Illumina NovaSeq6000上机测序;最后于美吉生信云平台(www.majorbio.com)进行分析^[9]。

2.6 数据处理与分析

数据处理使用SPSS 21.0,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间分析使用One-Way ANOVA,两组间分析使用LSD-*t*(方差齐性)和Dunnett's *T3*(方差不齐)。

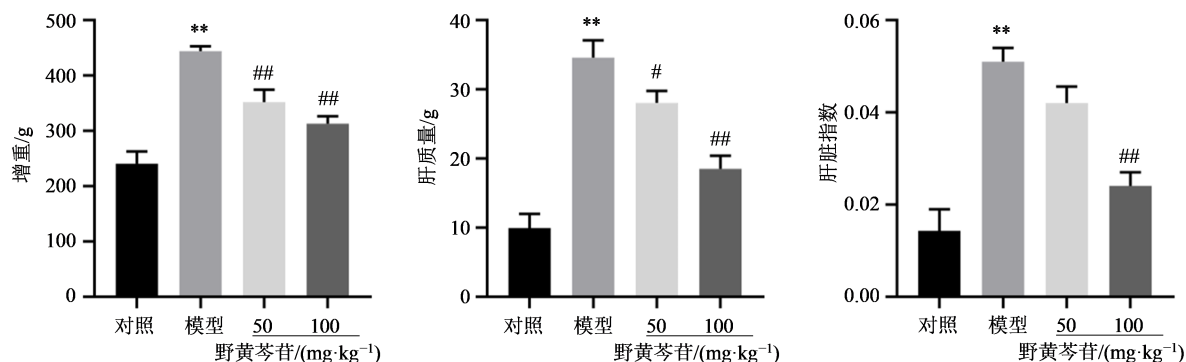
3 结果

3.1 野黄芩苷对大鼠体质量及肝脏指数的影响

如图1所示,与对照组比较,模型组大鼠16周增重、肝脏质量及肝脏指数明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,野黄芩苷低、高剂量组16周增重和肝脏质量明显下降($P < 0.05, 0.01$),野黄芩苷高剂量组肝脏指数明显下降($P < 0.01$),野黄芩苷低剂量组肝脏指数有下降趋势。

3.2 野黄芩苷对大鼠肝功能和血脂相关指标的影响

如图2所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中ALT、AST、TC和TG水平明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,野黄芩苷低、高剂量组ALT、AST和TG水平明显降低($P < 0.05, 0.01$),野黄芩苷高剂量组TC水平明显降低($P < 0.01$)。此外,低剂量野黄芩苷对于TC有降低趋势。



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图1 野黄芩苷对大鼠肥胖相关指标的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 1 Effect of scutellarin on obesity-related indicators in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

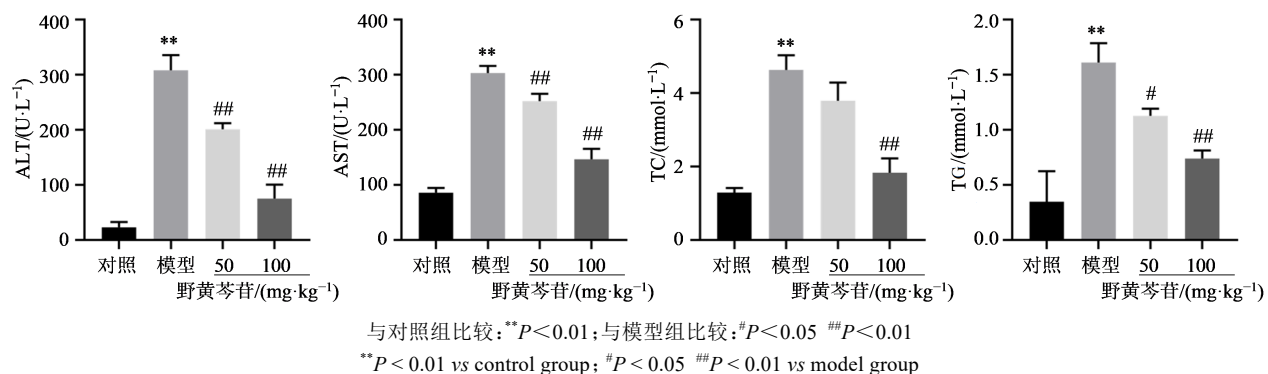


图2 野黄芩苷对大鼠肝功能和血脂相关指标的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 2 Effect of scutellarin on liver function and lipid-related indexes in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.3 野黄芩苷对大鼠肝脏HE染色的影响

如图3所示,对照组大鼠肝脏结构正常;模型组大鼠肝脏肝小叶结构出现损伤,呈现弥漫性小泡、大泡脂肪变性及气球样变;野黄芩苷低剂量组大鼠肝脏结构及脂肪变性稍有改善;高剂量组大鼠肝脏结构趋于正常,肝脏仅有轻微的小泡脂肪变性。

3.4 野黄芩苷对大鼠肝脏油红O染色的影响

如图4所示,对照组大鼠肝脏无明显红色脂滴;

模型组大鼠肝脏中红色脂滴大量积聚;野黄芩苷低剂量大鼠肝脏中红色脂滴减少;高剂量大鼠肝脏中仅有少量红色脂滴。

3.5 野黄芩苷对大鼠肝脏Masson染色的影响

如图5所示,对照组大鼠肝脏无蓝色胶原纤维;模型组大鼠肝脏中蓝色胶原纤维明显;野黄芩苷低、高剂量大鼠肝脏中蓝色胶原纤维减少。

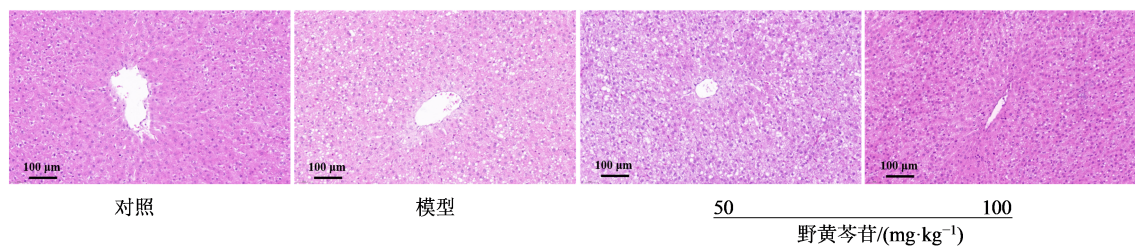


图3 野黄芩苷对大鼠肝脏HE染色的影响

Fig. 3 Effect of scutellarin on HE staining of rat liver

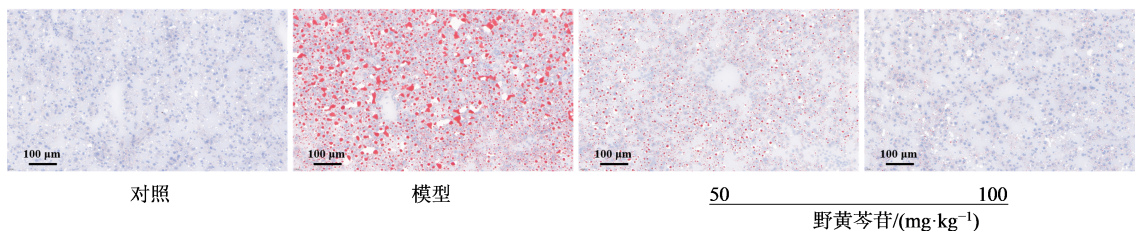


图4 野黄芩苷对大鼠肝脏油红O染色的影响

Fig. 4 Effect of scutellarin on oil red O staining of rat liver

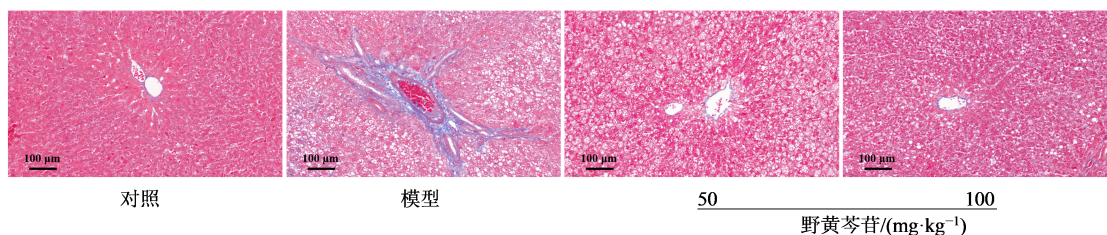


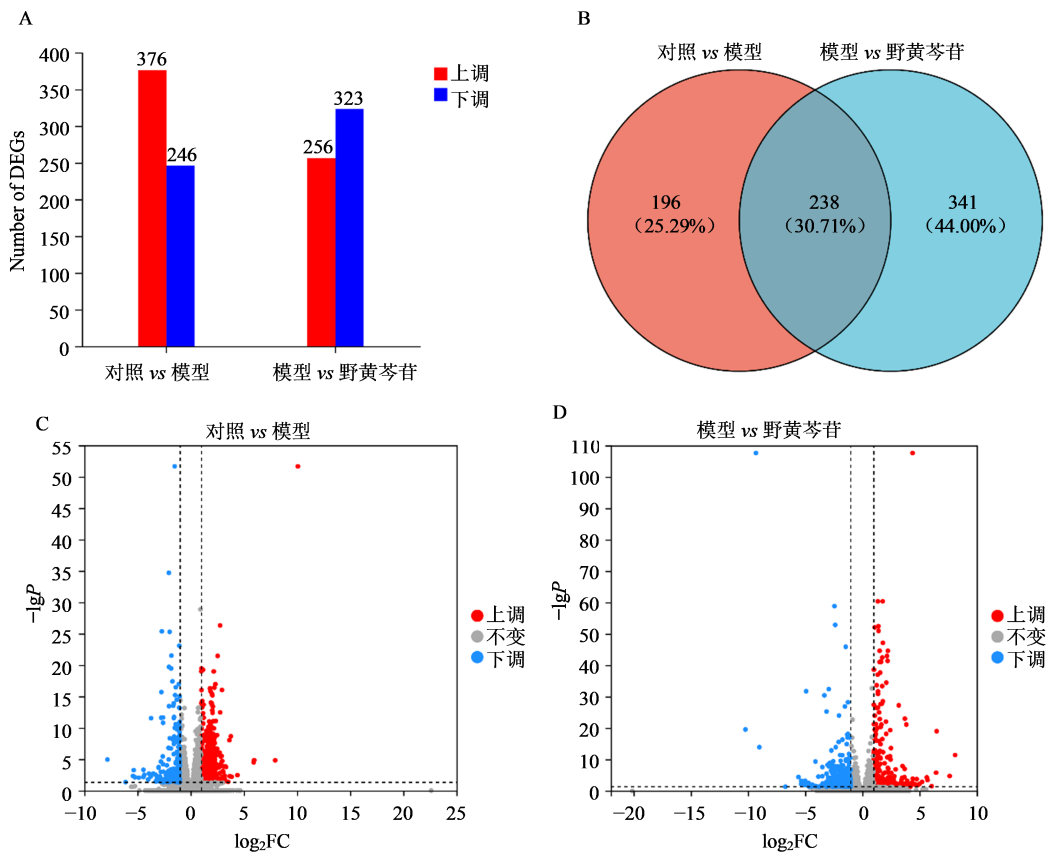
图5 野黄芩苷对大鼠肝脏Masson染色的影响

Fig. 5 Effect of scutellarin on Masson staining of rat liver

3.6 野黄芩苷对大鼠肝脏差异基因的影响

高剂量野黄芩苷的药效明确优于低剂量,故转录组分析给药组选择高剂量野黄芩苷。如图6-A、C、D所示,对照组与模型组比较,有622个差异基

因,其中376个基因上调、246个基因下调;模型组和野黄芩苷组比较,有579个差异基因,其中256个基因上调、323个基因下调。如图6-B所示,上述2种比较有238个共有差异基因。



A-各组间上调和下调的差异表达基因的数量;B-组间差异表达基因的维恩图;C、D-差异基因的火山图

A-Number of differentially expressed genes up- and down-regulated between groups; B-Venn diagram of differentially expressed genes between groups; C and D-volcano diagram of differentially expressed genes

图6 大鼠肝脏转录组分析

Fig. 6 Analysis of rat liver transcriptome

3.7 共有差异基因功能注释分析

功能注释分析是指对目标基因进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)的注释,从而寻找差异表达的功能,这是RNA测序的最主要目的之一,故对上述2种比较238个共有差异基因进行分析。如图7-A所示,共有差异基因GO注释分析结果中与MAFLD相关的为代谢过程、细胞过程。如图7-B所示,共有差异基因KEGG注释分析结果中与MAFLD相关的为内分泌和代谢性疾病、脂质代谢、运输和分解代谢、信号分子和相互作用、信号转导。

3.8 共有差异基因功能富集分析

功能富集分析是对选择的差异基因集进行富集分析,使用超几何分布算法获得这些基因集中的

基因显著富集的功能或主要参与的代谢通路,包括GO富集分析和KEGG富集分析。如图8-A所示,GO功能富集结果为细胞外基质组织、细胞外结构组织、负向调节生长和调节骨吸收等。如图8-B所示,KEGG功能富集结果为环磷酸鸟苷(cGMP)/蛋白激酶G(PKG)信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路、松弛素信号通路、晚期糖基化终末产物(AGE)-糖基化终末产物受体(RAGE)信号通路、钙信号通路、胰岛素抵抗和Hippo信号通路等。

4 讨论

MAFLD是最普遍的慢性肝病,对患者的生活质量有着很大的负面影响,不幸的是,目前仍然没有特定的治疗药物,当前的治疗策略主要集中在缓

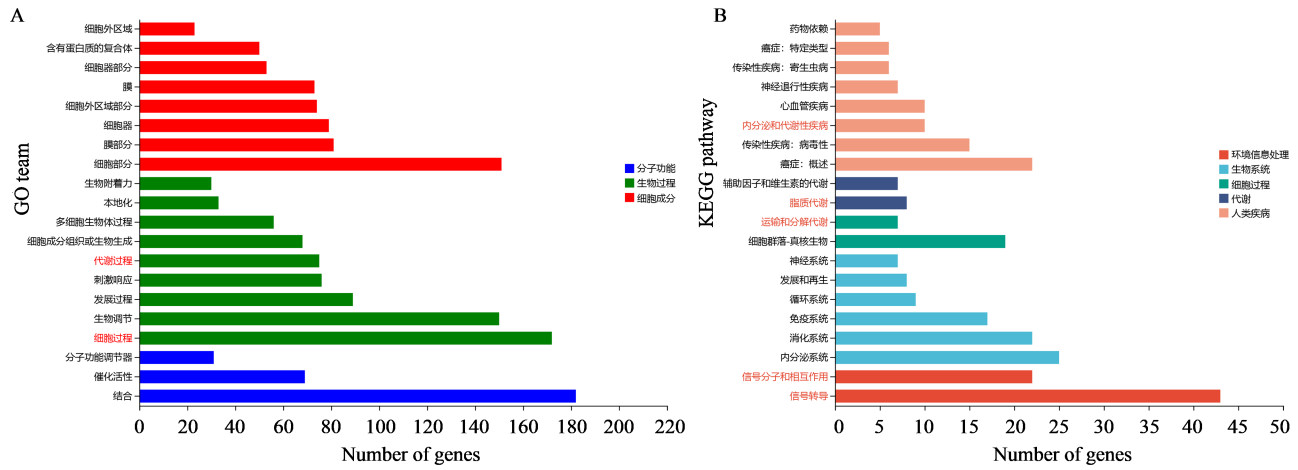


图7 共有差异基因功能注释分析
 Fig. 7 Functional annotation analysis of shared differentially expressed genes

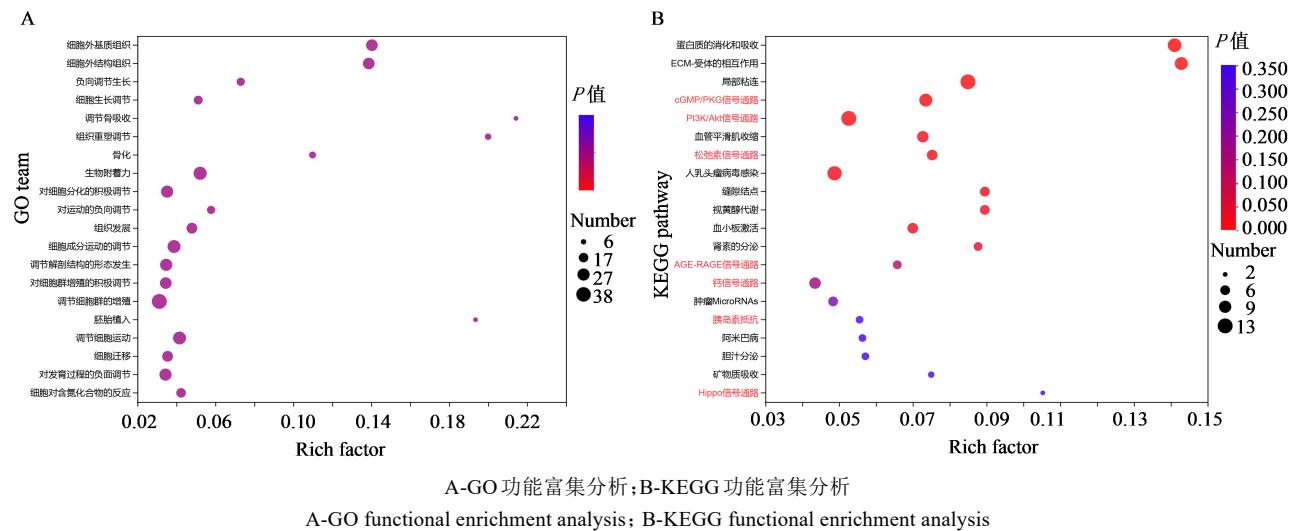


图8 共有差异基因功能富集分析
 Fig. 8 Functional enrichment analysis of shared differentially expressed genes

解MAFLD的并发症上,包括高脂血症和胰岛素抵抗等^[10]。因此,寻找针对性治疗MAFLD药物已成为人们高度关注的问题。近年来,发现了对MAFLD具有多方面肝保护作用并可忽略不良反应的天然化合物^[11-12]。野黄芩苷作为一种天然黄酮类化合物,已有体内及体外研究显示其能够通过肌醇需求酶1 α (IRE1 α)/X盒结合蛋白1(XBP1)、过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (PPAR γ)/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子1 α (PGC-1 α)/核因子E2相关因子2(Nrf2)等信号通路调控自噬及氧化应激进程改善MAFLD^[7,13]。然而,关于野黄芩苷改善MAFLD的药效及机制研究较少且不够深入,且尚未有野黄芩苷对于HFD诱导的MAFLD的转录组学研究。

过度摄取高脂肪食物是现代生活方式的重要特征,同时这也是导致MAFLD发生发展的主要原因^[9]。当前研究常采用营养、环境因素(药物或毒物)及特殊品系动物(基因敲除或突变)等方式构建MAFLD实验动物模型^[14]。其中,长期HFD诱导的MAFLD动物模型与临床患者有着相似的症状,已广泛用于模拟MAFLD的发病过程^[15]。因此,本研究采用长期HFD饮食诱导MAFLD大鼠模型。本研究中,模型组大鼠体质量、肝脏质量及肝脏指数均明显增加,血清中肝损伤指标ALT、AST及血脂指标TC、TG水平明显升高,肝脏出现脂肪变性、聚集及一定程度纤维化等病理变化,与文献报道一致^[15],说明本研究采用长期HFD诱导的MAFLD大鼠模型构建成功。野黄芩苷能够明显改善体质量、

肝脏质量、肝脏指数、肝损伤、血脂相关指标和肝脏一系列病理变化,证明野黄芩苷能够明显改善MAFLD。此外,高剂量野黄芩苷的药效优于低剂量,表明野黄芩苷作用具有一定剂量相关性,提示后续进一步应用时剂量应纳入考虑,以发挥最优药效。

机制层面,本研究采用肝脏转录组学探讨,以定量评估所有编码和非编码RNA。本研究肝脏转录组显示,对照组大鼠与MAFLD大鼠间存在622个差异基因,而野黄芩苷干预后与MAFLD大鼠间存在579个差异基因,这2组比较中有着238个共有差异基因。这些结果表明,HFD对肝脏中基因表达有着明显影响,而野黄芩苷能够有效改善HFD对这些基因的影响。深入研究发现,野黄芩苷主要通过作用于这些共有差异基因调控cGMP/PKG、PI3K/Akt、松弛素、AGE-RAGE、钙、胰岛素抵抗和Hippo等信号通路发挥抗MAFLD作用。在这些途径中,cGMP/PKG信号通路中cGMP是细胞内信息传递的第二信使蛋白,通过磷酸化其下游PKG传递信号,从而促进相关效应蛋白转录^[16]。实验研究报道,雷公根茶能够通过cGMP/PKG信号通路发挥降脂作用,改善HFD诱导大鼠的脂代谢紊乱^[17]。炎症是MAFLD进展的标志,而PI3K/Akt信号通路是炎症进展的重要途径,研究证实天然成分银杏内酯B能够靶向该途径改善MAFLD^[18-19]。临床研究显示松弛素-2与糖尿病患者胰岛素敏感性呈正相关^[20],实验研究发现松弛素-2能够通过激活HFD喂养小鼠的肝内内皮型一氧化氮合酶(eNOS)来减少肝脂肪变性^[21]。HFD会增加机体AGE的形成和积累,在其受体RAGE的相互作用下会激活下游细胞信号的级联反应,引起氧化应激和慢性炎症,导致MAFLD从单纯脂肪变性进展为肝炎和纤维化^[22]。此外,敲除RAGE可减弱HFD对肝葡萄糖生成的影响,并改善肝脏中的胰岛素功能,最终改善MAFLD^[23]。钙充当第二信使,在细胞稳态中起核心作用。研究显示,钙失衡是导致肝脂肪变性的原因之一,靶向钙信号通路可能对MAFLD有益^[24]。胰岛素会阻止脂肪细胞的脂肪分解,但胰岛素抵抗发生后会导致游离脂肪酸的过量释放,导致肝脏脂质堆积而诱发MAFLD^[25]。目前正在评估增强全身胰岛素敏感性的药物对MAFLD患者的效果^[25]。临床研究显示,一种已获批准的噻唑烷二酮类胰岛素增敏剂罗格列酮能够使MAFLD患者胰岛素敏感性增强,肝脏脂肪变性减少,展现出MAFLD治疗作

用,提示胰岛素抵抗途径为治疗MAFLD的潜在途径^[26]。研究发现,Hippo信号通路中Hippo效应蛋白Yes相关蛋白(YAP)与MAFLD患者症状的严重程度呈正相关^[27]。

野黄芩苷可能通过作用于肝脏238个基因,调控cGMP/PKG、PI3K/Akt、松弛素、AGE-RAGE、钙、胰岛素抵抗和Hippo等信号通路发挥对MAFLD大鼠的改善作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 严宝飞,袁鹏,刘圣金,等. 黄芩汤对非酒精性脂肪肝大鼠肠道菌群的影响[J]. 中草药, 2022, 53(1): 162-175.
Yan B F, Yuan P, Liu S J, et al. Effects of Huangqin Decoction on gut microbiota in rats with nonalcoholic fatty liver disease [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53 (1): 162-175.
- [2] Fan H, Ma X D, Lin P, et al. Scutellarin prevents nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and hyperlipidemia via PI3K/AKT-dependent activation of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) in rats [J]. Med Sci Monit, 2017, 23: 5599-5612.
- [3] Al Zazour R H, Ahmad M, Asmawi M Z, et al. *Phyllanthus niruri* standardized extract alleviates the progression of non-alcoholic fatty liver disease and decreases atherosclerotic risk in sprague-dawley rats [J]. Nutrients, 2017, 9(7): 766.
- [4] Soh J, Iqbal J, Queiroz J, et al. MicroRNA-30c reduces hyperlipidemia and atherosclerosis in mice by decreasing lipid synthesis and lipoprotein secretion [J]. Nat Med, 2013, 19(7): 892-900.
- [5] 唐敏,戴仕林,周礼仕,等. 黄芩茎叶总黄酮对结肠癌HCT116细胞凋亡、迁移和侵袭的影响[J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 902-908.
Tang M, Dai S L, Zhou L S, et al. Effect of total flavonoids in *Scutellaria baicalensis* stem-leaf on apoptosis, migration and invasion of colon cancer cells [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(5): 902-908.
- [6] Peng L, Wen L, Shi Q F, et al. Scutellarin ameliorates pulmonary fibrosis through inhibiting NF- κ B/NLRP3-mediated epithelial-mesenchymal transition and inflammation [J]. Cell Death Dis, 2020, 11(11): 978.
- [7] Chen C, Weng Z Y, Wang Y L, et al. Scutellarin protect human cardiac microvascular endothelial cells by hypoxia-reoxygenation injury involved JAK2/STAT3 signal pathway [J]. Chin Herb Med, 2019, 11(1): 103-107.
- [8] Zhang X X, Ji R P, Sun H J, et al. Scutellarin ameliorates nonalcoholic fatty liver disease through the PPAR γ /PGC-

- 1 α -Nrf2 pathway [J]. Free Radic Res, 2018, 52(2): 198-211.
- [9] Huang X M, Yuan Z H, Liu X J, et al. Integrative multi-omics unravels the amelioration effects of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. on non-alcoholic fatty liver disease [J]. Phytomedicine, 2023, 109: 154576.
- [10] Yan B F, Wang Y, Wang W B, et al. Huangqin decoction mitigates hepatic inflammation in high-fat diet-challenged rats by inhibiting TLR4/NF- κ B/NLRP3 pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 303: 115999.
- [11] Guo C, Huang Q X, Wang Y S, et al. Therapeutic application of natural products: NAD⁺ metabolism as potential target [J]. Phytomedicine, 2023, 114: 154768.
- [12] 景铭, 王美灵, 张媛媛, 等. 雷公藤红素调控NLRP3炎症小体改善大鼠代谢相关脂肪性肝病研究 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(4): 624-632.
- Jing M, Wang M L, Zhang Y Y, et al. Celastrol regulates NLRP3 inflammasome signal pathway to improve metabolic dysfunction-associated fatty liver disease in rats [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(4): 624-632.
- [13] Zhang X Y, Huo Z J, Luan H L, et al. Scutellarin ameliorates hepatic lipid accumulation by enhancing autophagy and suppressing IRE1 α /XBP1 pathway [J]. Phytother Res, 2022, 36(1): 433-447.
- [14] 谢博文, 李蓓蕾, 胡鹏言, 等. 非酒精性脂肪性肝病动物模型研究进展 [J]. 广西中医药大学学报, 2018, 21(4): 65-67.
- Xie B W, Li B L, Hu Y P, et al. Advances in animal models of nonalcoholic fatty liver disease [J]. J Guangxi Univ Chin Med, 2018, 21(4): 65-67.
- [15] Friedman S L, Neuschwander-Tetri B A, Rinella M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies [J]. Nat Med, 2018, 24(7): 908-922.
- [16] 陈洁, 赵松耀, 李世泽, 等. 藏红花素通过调控cGMP/PKG通路对癫痫大鼠的神经保护及对海马神经元兴奋性的影响 [J]. 卒中与神经疾病, 2022, 29(4): 349-354.
- Chen J, Zhao S Y, Li S Z, et al. The neuroprotection of crocin on the rats with epilepsy and its effect on the excitability of hippocampal neurons by regulating cGMP/PKG pathway [J]. Stroke Nervo Dis, 2022, 29(4): 349-354.
- [17] Lan T J, Li Q F, Chang M, et al. Lei-gong-gen formula granule attenuates hyperlipidemia in rats via cGMP-PKG signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 260: 112989.
- [18] Matsuda S, Kobayashi M, Kitagishi Y. Roles for PI3K/AKT/PTEN pathway in cell signaling of nonalcoholic fatty liver disease [J]. ISRN Endocrinol, 2013, 2013: 472432.
- [19] 马琼, 闫龙腾, 范晓明, 等. 银杏内酯B调控PI3K/Akt信号通路抑制非酒精性脂肪性肝病大鼠肝细胞线粒体功能障碍的研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(6): 48-52.
- Ma Q, Yan L T, Fan X M, et al. Inhibitory effect of ginkgolide B regulating PI3K/Akt signal pathway on hepatocyte mitochondrial dysfunction in rats with nonalcoholic fatty liver disease [J]. J Liaoning Univ TCM, 2022, 24(6): 48-52.
- [20] McCullough A J. The clinical features, diagnosis and natural history of nonalcoholic fatty liver disease [J]. Clin Liver Dis, 2004, 8(3): 521-533.
- [21] Lee K C, Hsieh Y C, Chan C C, et al. Human relaxin-2 attenuates hepatic steatosis and fibrosis in mice with non-alcoholic fatty liver disease [J]. Lab Invest, 2019, 99(8): 1203-1216.
- [22] Asadiipooya K, Lankarani K B, Raj R, et al. RAGE is a potential cause of onset and progression of nonalcoholic fatty liver disease [J]. Int J Endocrinol, 2019, 2019: 2151302.
- [23] Song F, Hurtado del Pozo C, Rosario R, et al. RAGE regulates the metabolic and inflammatory response to high-fat feeding in mice [J]. Diabetes, 2014, 63(6): 1948-1965.
- [24] 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): 1411-1421.
- [25] Sakurai Y, Kubota N, Yamauchi T, et al. Role of Insulin Resistance in MAFLD [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(8): 4156.
- [26] Ferguson D, Finck B N. Emerging therapeutic approaches for the treatment of NAFLD and type 2 diabetes mellitus [J]. Nat Rev Endocrinol, 2021, 17(8): 484-495.
- [27] Wang X B, Zheng Z, Caviglia J M, et al. Hepatocyte TAZ/WWTR1 promotes inflammation and fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis [J]. Cell Metab, 2016, 24(6): 848-862.

[责任编辑 兰新新]