

## 整合非靶向血清代谢组学与肝脏脂质组学探究牛樟叶总多糖对小鼠急性酒精性肝损伤的作用机制

谭培姚<sup>1</sup>, 梁学政<sup>3</sup>, 吕建伟<sup>2</sup>, 梁玉梅<sup>2</sup>, 谭柳萍<sup>3</sup>, 张 蓓<sup>2\*</sup>

1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530200

2. 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁 530023

3. 柳州市中医医院 (柳州市壮医医院), 广西 柳州 545026

**摘要:** **目的** 通过非靶向代谢组学与脂质组学技术, 分析急性酒精性肝损伤小鼠血清代谢产物及肝脏脂质分子, 筛选酒精性肝损伤相关差异代谢物并进行通路富集及相关性分析, 探究牛樟叶总多糖对急性酒精性肝损伤模型小鼠的肝脏保护作用机制。 **方法** 以 ig 白酒建立小鼠急性酒精性肝损伤模型, 设置对照组、模型组、水飞蓟宾 (阳性药, 100 mg·kg<sup>-1</sup>) 组及牛樟叶总多糖低、中、高剂量 (100、200、400 mg·kg<sup>-1</sup>) 组; 苏木素-伊红 (HE) 染色检测小鼠肝组织病理变化, 试剂盒法检测血清三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白 (LDL)、高密度脂蛋白 (HDL) 水平, 同时采用非靶向代谢组学分析血清代谢物变化, 脂质组学分析肝脏脂质分子变化, 并对差异代谢物进行通路富集及相关性分析。 **结果** 牛樟叶总多糖可显著改善模型小鼠肝组织脂肪变性、气球样变和坏死等病理损伤, 且高剂量组与水飞蓟宾组肝组织结构基本恢复正常; 牛樟叶多糖能剂量相关性降低血清 TG、TC、LDL 水平, 提升 HDL 含量。血清代谢组学筛选出 14 个差异代谢物, 涉及谷胱甘肽代谢及苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸生物合成等通路; 肝脏脂质组学鉴定出 28 种显著调节的脂质分子, 关联甘油磷脂、亚油酸、 $\alpha$ -亚麻酸代谢通路。相关性分析发现 L-谷胱甘肽等 3 种血清代谢物与肝脏脂质代谢物关联广泛, 溶血磷脂酰胆碱 (LPC) (18:0) 等 4 种脂质是连接肝脏局部损伤与全身代谢应答的关键分子。 **结论** 牛樟叶总多糖对急性酒精性肝损伤小鼠具有显著的肝脏保护作用, 其作用机制与调节脂质代谢通路、改善机体氧化应激状态、调控氨基酸代谢紊乱密切相关。

**关键词:** 牛樟叶; 总多糖; 酒精性肝损伤; 代谢组学; 脂质组学; 脂质代谢; 氧化应激

**中图分类号:** R285.5; R575.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 6376(2026)03 - 0822 - 15

**DOI:**10.7501/j.issn.1674-6376.2026.03.009

## Integrating non-targeted serum metabolomics and liver lipidomics to explore mechanism of action of total polysaccharides from *Cinnamomum kanahirae* leaves on acute alcoholic liver injury in mice

TAN Peiyao<sup>1</sup>, LIANG Xuezheng<sup>3</sup>, LÜ Jianwei<sup>2</sup>, LIANG Yumei<sup>2</sup>, TAN Liuping<sup>3</sup>, ZHANG Bei<sup>2</sup>

1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China

3. Liuzhou Traditional Chinese Medicine Hospital (Liuzhou Zhuang Medical Hospital), Liuzhou 545026, China

**Abstract: Objective** To investigate the liver protective effect of total polysaccharides from *Cinnamomum kanahirae* leaves on acute alcoholic liver injury in mice by non-targeted metabolomics and lipidomics techniques, and to screen the related differential metabolites and construct metabolic pathways. **Methods** An acute alcoholic liver injury model in mice was established by intragastric administration of alcohol. The mice were divided into the control group, model group, silybin (positive drug, 100 mg·kg<sup>-1</sup>) group, and low-, medium-, and high-dose total polysaccharides from *C. kanahirae* leaves (100, 200, and 400 mg·kg<sup>-1</sup>) groups. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to detect pathological changes in the liver tissue of mice, and the levels of serum triglycerides (TG), total

收稿日期: 2025-11-13

基金项目: 广西研究生教育创新计划项目 (YCSY2025096); 全国中药特色技术传承人才培养项目 (T20234832005)

作者简介: 谭培姚, 从事中药药效评价与应用研究。E-mail: tpy053862@163.com

\*通信作者: 张 蓓, 从事中药药效评价与应用研究。E-mail: zhangbei8402@126.com

cholesterol (TC), low-density lipoprotein (LDL), and high-density lipoprotein (HDL) were detected by kit method. Non-targeted metabolomics was used to analyze the changes in serum metabolites, and lipidomics was used to analyze the changes in liver lipid molecules. Pathway enrichment and correlation analysis were performed on the differential metabolites. **Results** Total polysaccharides from *C. kanahirae* leaves could significantly improve the pathological damage of liver tissues such as steatosis, ballooning, and necrosis in model mice, and the liver tissue structure in the high-dose group was basically restored to normal, similar to the silybin group. The polysaccharides could dose-dependently reduce serum TG, TC, and LDL levels and increase HDL content. Metabolomics of serum identified 14 differential metabolites, involving glutathione metabolism, phenylalanine, tyrosine, and tryptophan biosynthesis pathways. Lipidomics of liver identified 28 significantly regulated lipid molecules, associated with glycerophospholipid, linoleic acid, and  $\alpha$ -linolenic acid metabolism pathways. Correlation analysis revealed that three serum metabolites, such as *L*-glutathione, were widely associated with liver lipid metabolites, and four lipids, such as lysophosphatidylcholine (LPC) (18 : 0), were key molecules connecting local liver injury and systemic metabolic responses. **Conclusion** Total polysaccharides from *C. kanahirae* leaves have a significant liver protective effect on acute alcoholic liver injury in mice, and the mechanism is closely related to the regulation of lipid metabolism pathways, improvement of oxidative stress status, and regulation of amino acid metabolism disorders.

**Key words:** *Cinnamomum kanahirae* Hayata; total polysaccharides; alcoholic liver injury; metabolomics; lipidomics; lipid metabolism; oxidative stress

肝脏作为人体物质与能量代谢的核心器官，同时也是多种内源性代谢产物合成的重要场所<sup>[1]</sup>。其功能的完整性直接关系到人体健康，一旦受损可能引发严重的健康问题，甚至危及生命。酒精性肝病（ALD）是由过量饮酒导致的肝脏代谢紊乱性疾病，其代谢产物可对肝组织造成持续性损伤<sup>[2]</sup>。由于晚期 ALD 临床治疗难度大、难以彻底治愈，因此早期识别与干预急性酒精性肝损伤，成为预防与控制 ALD 疾病进展的关键环节<sup>[3]</sup>。

急性酒精性肝损伤是短期内过量饮酒引发的急性肝脏病变，以氧化应激、炎症反应及代谢紊乱为主要特征，严重时可导致肝细胞坏死乃至肝功能衰竭<sup>[4]</sup>。酒精及其代谢产物通过促进脂质合成、抑制脂肪酸氧化，导致三酰甘油（TG）在肝细胞内异常蓄积<sup>[5]</sup>，同时引起总胆固醇（TC）<sup>[6]</sup>、低密度脂蛋白（LDL）水平升高以及高密度脂蛋白（HDL）水平降低<sup>[7]</sup>，上述脂质代谢异常共同加剧了肝损伤的进展进程。目前，ALD 的临床治疗主要依赖化学药及手术干预，但存在不良反应明显、疾病复发率较高等突出问题，因此研发天然来源、安全性高且疗效显著的保肝药物，已成为 ALD 预防与治疗领域的重要研究方向。

近年来，中药凭借其多靶点作用特点及较低的不良反应，在 ALD 的预防与治疗中展现出独特优势<sup>[8]</sup>；同时，天然活性物质对酒精性肝损伤的保护作用日益受到学界关注，为 ALD 的防治研究提供了新的思路。牛樟 *Cinnamomum kanahirae* Hayata 作

为台湾特有植物，其叶片富含多糖、多酚、萜类等多种活性物质，这些成分已被证实具有抗氧化、抗炎及护肝等生物学活性<sup>[9-10]</sup>。相关研究表明，牛樟叶提取物在传统医学与现代医学领域均展现出良好的肝脏保护潜力<sup>[11-12]</sup>。然而，现有关于牛樟叶改善 ALD 的药效研究，大多局限于检测丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）等传统生化指标<sup>[13-14]</sup>，此类检测虽能从宏观层面反映药物的干预效果，却难以系统揭示其整体作用机制，尤其在 ALD 发病关键的脂质代谢紊乱环节存在研究短板。因此，将 TG、TC、LDL、HDL 等脂质代谢指标纳入药效评价体系，不仅能够更全面地反映酒精性肝损伤的代谢特征，还能从脂代谢调节角度深入剖析药物的作用机制，为阐明牛樟叶保肝作用的多靶点特性提供科学依据。

代谢组学技术的快速发展，为 ALD 的分子机制研究提供了全新路径<sup>[15]</sup>。其中，血清代谢组学可系统分析酒精暴露状态下内源性代谢物的动态变化规律<sup>[16]</sup>，肝脏脂质组学则有助于明确酒精诱导的脂质重塑过程及其与肝损伤的内在关联<sup>[17]</sup>。本研究通过构建急性酒精性肝损伤小鼠模型，结合非靶向血清代谢组学与脂质组学技术，系统分析牛樟叶干预后血清及肝脏中差异代谢物的变化规律，以及其对相关代谢通路的调控作用，从代谢层面深入阐明牛樟叶改善 ALD 的作用机制，为牛樟叶的进一步开发应用及 ALD 的预防治疗提供新的理论依据与研究方向。

## 1 材料

### 1.1 动物

60 只 SPF 级雄性昆明小鼠, 8 周龄, 体质量为  $(20 \pm 2)$  g, 动物许可证号 SCXK (浙) 2020-0002, 购于浙江维通利华实验动物技术有限公司; 饲养在 SPF 级实验室, 适应性饲喂 7 d 后, 进行给药、造模和取材实验。实验动物使用符合广西中医药大学动物实验标准, 经实验动物伦理委员会批准 (KS20250000-266)。

### 1.2 药物

牛樟叶由柳州市天姿园艺有限公司提供, 经柳州市中医医院副主任中药师张洪平鉴定为牛樟 *C. kanahirae* Hayata 的叶子, 标本保存于柳州市中医医院药学部标本室。

取干燥牛樟叶药材, 粉碎后采用热水提取法提取多糖, 料液比 1:40, 共提取 3 次, 合并 3 次提取滤液; 向滤液中加入 95%乙醇, 至乙醇体积分数为 75%, 醇沉 36 h, 多糖因醇溶性极差析出形成沉淀, 抽滤后, 收集沉淀并干燥, 得到牛樟叶多糖粗提物, 于 4 °C 冰箱中保存备用。实验结果显示, 8.805 g 牛樟叶生药可制备得 1 g 上述多糖粗提物; 经葡萄糖标准曲线法测定, 该多糖粗提物中总多糖的质量分数为  $8.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

### 1.3 试剂

水飞蓟宾 (S109808, 质量分数  $\geq 98\%$ ), 上海阿拉丁生化科技公司; 体积分数为 53%的白酒 (批号 2024031810), 北京红星股份有限公司; 0.9%氯化钠溶液, 武汉滨湖双鹤药业有限责任公司; 苏木精、伊红染液、4%多聚甲醛固定液, 武汉赛维尔生物科技有限公司; TG、TC 生化检测试剂盒 (批号 A110-1-1、A111-1-1), 南京建成生物工程研究所; LDL、HDL 生化检测试剂盒 (批号 J24525、J24538), 武汉吉立德生物科技有限公司; 甲醇 (批号 222124)、甲酸 (批号 243922)、乙腈 (批号 F25P91216)、异丙醇 (批号: A461-212), 美国 Thermo Fisher 公司; 甲酸铵 (批号 70221)、叔丁基甲基醚 (批号 34875), 上海 Sigma 公司; L-2-氯苯丙氨酸 (批号 J29IB218395), 上海源叶生物科技有限公司。

### 1.4 仪器

RM2016 病理切片机 (上海徕卡仪器有限公司); Vanquish 型超高效液相色谱仪和 Orbitrap Exploris 120 型高分辨质谱仪 (美国赛默飞世尔科技

公司); 十万分之一天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); TGL-16M 型离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); KZ-III-F 型组织破碎仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司); KQ5200E 型超声机 (深圳市雷德邦电子有限公司); RT-2100C 型全波长酶标仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 分组、造模及给药

60 只 SPF 级昆明小鼠随机分为对照组、模型组、水飞蓟宾 (阳性药,  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组及牛樟叶总多糖低、中、高剂量 ( $100$ 、 $200$ 、 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组, 每组 10 只。对照组与模型组 ig 等体积蒸馏水, 各给药组 ig 相应质量浓度受试药物, 连续给药 2 周。末次给药 12 h 后, 对照组 ig 等体积 0.9%氯化钠溶液, 其余各组均 ig 体积分数为 53%白酒造模<sup>[18]</sup>, 造模剂量为  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 造模后统一禁食 12 h。急性酒精性肝损伤模型建立后, 采集小鼠眼眶血样, 于 4 °C、 $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min, 分离血清,  $-80$  °C 冻存备用; 无菌摘取小鼠肝脏组织, 取部分肝组织按料液比 1:9 加入冰磷酸盐缓冲溶液 (PBS), 充分匀浆后于 4 °C、 $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20 min, 取上清液制得肝组织匀浆液, 同样置于  $-80$  °C 冻存备用。

### 2.2 苏木素-伊红 (HE) 染色

取“2.1”项下肝脏组织样本在 4%多聚甲醛固定 48 h, 石蜡包埋并切片, 在不同梯度乙醇浓度下水化, 随后进行 HE 染色, 通过标准光学显微镜观察肝组织病理学变化。

### 2.3 生化指标测定

取“2.1”项下血清样本, 按照生化指标试剂盒说明, 检测小鼠血清中 TG、TC、LDL 和 HDL 水平。

### 2.4 代谢组学分析

**2.4.1 内标溶液的配制** 精密称取 10 mg L-2-氯苯丙氨酸 (内标), 以 50%甲醇水为溶剂定容至 10 mL, 配制成质量浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的内标储备溶液。临用时, 以 50%甲醇水稀释至  $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**2.4.2 血清样品的制备** 取 200  $\mu\text{L}$  血清样本与 800  $\mu\text{L}$  提取液 (甲醇:乙腈=1:1), 加入 10  $\mu\text{L}$  内标 ( $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 混合涡旋 60 s, 超声处理 30 min。将样品在低温离心机中离心 ( $4$  °C、 $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 5 min, 取上清液, 真空浓缩 4 h, 质谱分析时加入 200  $\mu\text{L}$  50%甲醇水溶液, 涡旋振摇 40 s, 超声 10 min。取上清进样分析。所有样品另取等体积上清混合成

质控 (QC) 样品进样检测。

**2.4.3 肝脏组织样品的制备** 肝脏组织在液氮的保护下将其研磨成粉, 用分析天平准确称取 100 mg, 加入 240  $\mu\text{L}$  预冷 ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 甲醇, 涡旋混合, 加入 800  $\mu\text{L}$  叔丁基甲基醚, 涡旋混合, 低温水浴中超声 20 min, 室温静置 30 min, 在  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $14\,000\times g$  离心 15 min, 取上层有机相, 氮气吹干, 质谱分析时加入 200  $\mu\text{L}$  90% 异丙醇-乙腈溶液复溶, 涡旋振荡 40 s,  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $14\,000\times g$  离心 15 min, 取上清进样分析。

**2.4.4 血清样品分析色谱及质谱条件** (1) 色谱条件: 采用 ACQUITY UPLC HSS T3 ( $100\text{ mm}\times 2.1\text{ mm}$ ,  $1.8\text{ }\mu\text{m}$ ) 色谱柱, 柱温  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 采用 0.1% 甲酸水溶液 (A)-0.1% 甲酸乙腈溶液 (B), 梯度洗脱 0~0.5 min, 5% B; 0.5~5.5 min, 5%~50% B; 5.5~9.0 min, 50%~95% B; 9.0~10.5 min, 95%~5% B; 10.5~12.0 min, 5% B; 进样量  $1\text{ }\mu\text{L}$ ; 体积流量  $0.4\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

(2) 质谱条件: 采用电喷雾离子源 (ESI) 进行正、负离子扫描模式检测; 正、负离子模式喷雾电压分别为 3.5、2.5 kV; 离子传输管温度  $325\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 辅助气体积流量 10 arb, 鞘气体积流量 50 arb; 分辨率设置为 60 000; 质谱扫描范围  $m/z$  67~1 000; 采用高能碰撞解离 (HCD) 模式, 碰撞能量分别为 20%、40%、60%, RF Level 为 40%。

**2.4.5 肝组织样品分析色谱及质谱条件** (1) 色谱条件: 采用 ACQUITY TM Premier CSH C<sub>18</sub> ( $150\text{ mm}\times 2.1\text{ mm}$ ,  $1.7\text{ }\mu\text{m}$ ) 色谱柱, 柱温  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 流动相 A 为乙腈-水 (3:2), 流动相 B 为异丙醇-乙腈 (9:1), 梯度洗脱: 0~3.5 min, 40%~43% B; 3.5~4.0 min, 43%~50% B; 4~7 min, 50%~60% B; 7~13 min, 60%~75% B; 13~17 min, 75%~99% B; 17~19 min, 99% B; 19.0~19.5 min, 99%~40% B; 19.5~24.0 min, 40% B, 体积流量  $0.3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 进样量  $2\text{ }\mu\text{L}$ 。

(2) 质谱条件: 采用 ESI 离子源进行正离子和负离子模式检测; 正离子模式喷雾电压 2.5 kV, 负离子模式 2.5 kV; 离子源温度  $325\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 辅助气温度  $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 辅助气体积流量 10 arb, 鞘气体积流量 30 arb, S-Lens RF: 50, 扫描范围  $m/z$  200~1 800, 二级碰撞能量为 30%, 隔离窗口  $m/z$  1.5。

采用 LipidSearch 软件对 UPLC-Q/TOF-MS 原始代谢数据进行峰识别、峰对齐、峰提取等预处理操作; 全部后续数据处理基于 R 4.3.1 平台完成, 并借助 ropls 1.28.0 软件包开展多元统计分析, 包括主

成分分析 (PCA) 与正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA)。以 OPLS-DA 模型中变量投影重要性 (VIP)  $>1$  且  $t$  检验  $P<0.05$  为双重筛选标准, 确定差异代谢物。对筛选所得差异代谢物, 先通过京都基因与基因组百科全书数据库 (KEGG) 完成通路注释; 按代谢物参与的信号通路或生物学功能分类后, 整合人类代谢组数据库 (HMDB)、KEGG 及脂质代谢物数据库 (LIPID MAPS) 的注释信息, 最终依托 KEGG 数据库完成差异代谢物的代谢通路分析。

## 2.5 数据处理与统计分析

采用 GraphPad Prism 9.5.0 与 SPSS 27.0.1 软件进行统计学处理, 计量数据以  $\bar{x}\pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析。

## 3 结果

### 3.1 肝组织病理形态

结果见图 1。对照组肝细胞排列整齐, 结构清晰, 染色均匀。与对照组相比, 模型组细胞结构紊乱同时可见明显的脂肪变性 (红色箭头) 和肝细胞水肿 (黑色箭头), 证实 ALD 模型的成功建立。给药后各组的组织病理学结果显示, 肝细胞排列良好, 肝组织形态结构改善, 肝细胞大小发生变化, 边界基本清晰, 酒精性肝损伤得到一定程度的缓解。

### 3.2 肝损伤生化指标

在 ALD 模型中, 酒精代谢紊乱可破坏肝脏脂质稳态, 导致 TG 在肝细胞内异常蓄积; 同时 TC 代谢失衡进一步引起 LDL 水平升高, 促进脂质在肝内沉积, 而 HDL 水平降低则削弱其胆固醇逆向转运及抗炎功能, 上述变化共同加剧肝损伤进程。由图 2 可知, 与对照组相比, 模型组小鼠血清 TG、TC 及 LDL 水平均极显著升高 ( $P<0.01$ ), HDL 水平极显著降低 ( $P<0.01$ )。与模型组相比, 牛樟叶总多糖各剂量组均可显著降低血清 TG、TC、LDL 含量 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ ), 并显著提升 HDL 水平 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ )。

### 3.3 非靶向血清代谢组学分析

**3.3.1 代谢轮廓分析** 采用 PCA 对血清的代谢轮廓进行分析, 在正、负离子模式下, PCA 得分图 (图 3、4) 显示, 在 95% 置信区间内 QC 样本明显聚类, 证明该分析系统具有稳定性。对照组、模型组与牛樟叶总多糖高剂量组之间彼此显著分离, 表明各组代谢轮廓存在显著差异。而牛樟叶总多糖高剂量组向对照组区域靠近, 说明药物干预能有效逆转酒精性肝损伤所导致的代谢紊乱。

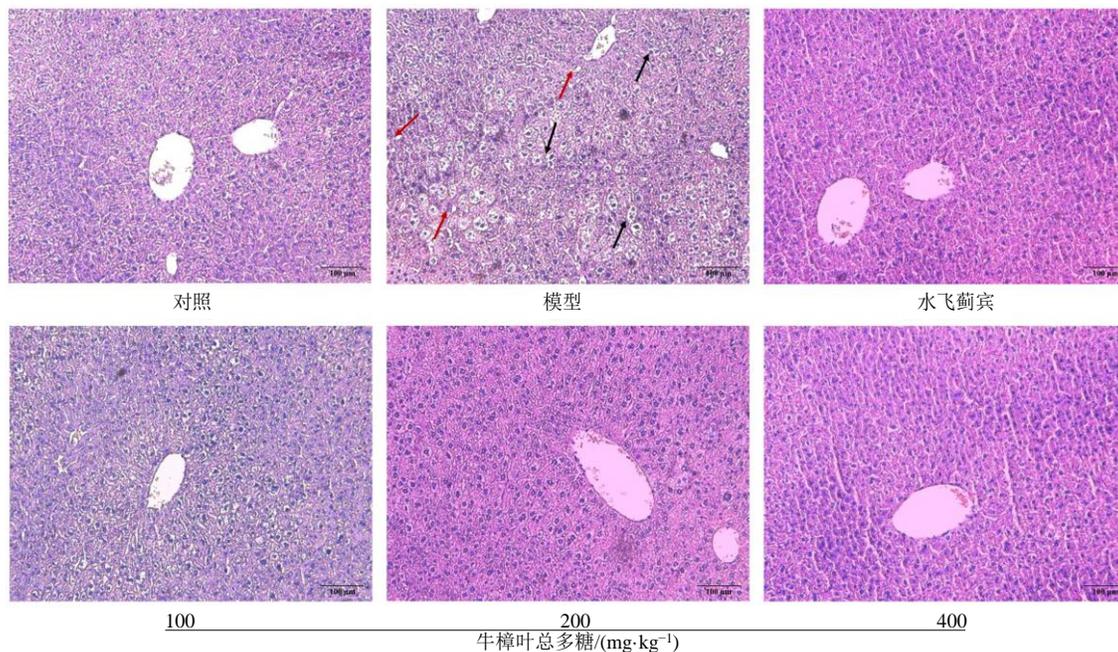
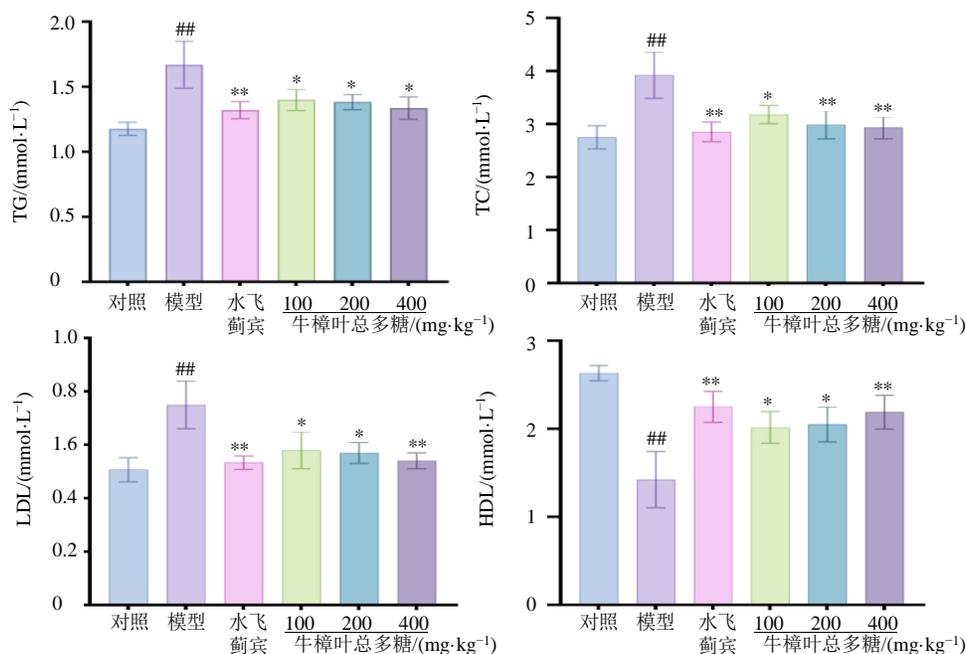


图 1 各组小鼠肝组织病理形态 (×100)

Fig. 1 Histopathological morphology of liver tissues in each group of mice (×100)



与对照组比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group.

图 2 牛樟叶总多糖对 ALD 模型小鼠血清中 TG、TC、LDL、HDL 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Fig. 2 Effects of total polysaccharides from leaves of *C. kanahirae* on TG, TC, LDL and HDL in serum of ALD model mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

为进一步研究组间差异, 采用 OPLS-DA 对小鼠血清样本进行分析, 结果各组内代谢物呈现各自聚类, 而组间分离明显且无重叠。与对照组相比,

模型组小鼠体内发生显著生物学变化。与模型组相比, 牛樟叶总多糖高剂量组小鼠体内也发生显著变化。通过 200 次置换检验, 对 OPLS-DA 模型进行统

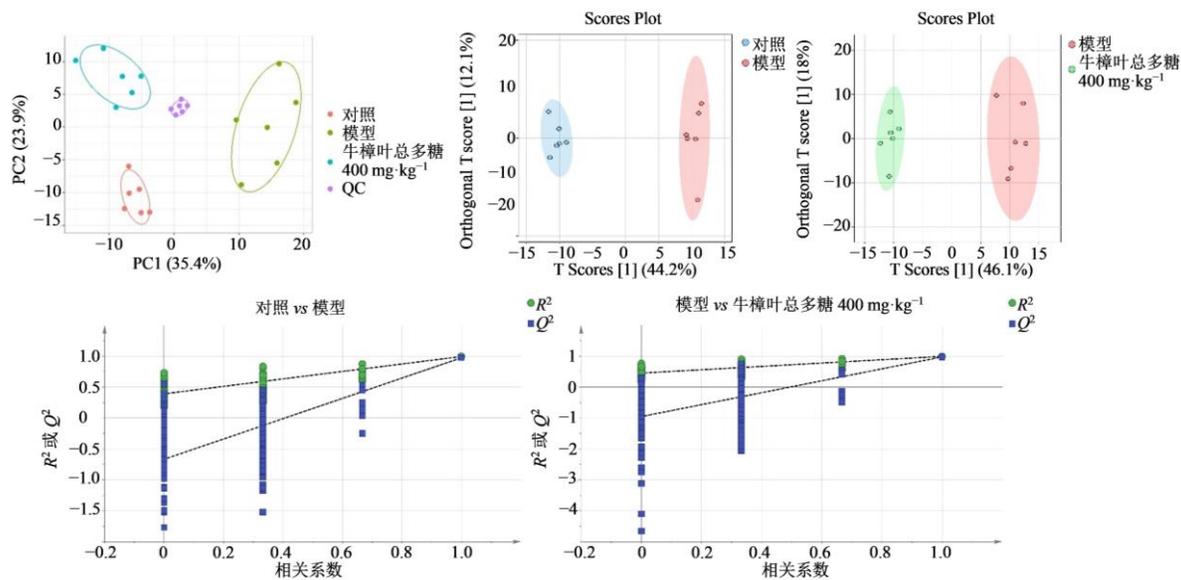


图 3 正离子模式下的 OPLS-DA 得分图及置换检验图

Fig. 3 OPLS-DA score plots and permutation test plot in positive ion mode

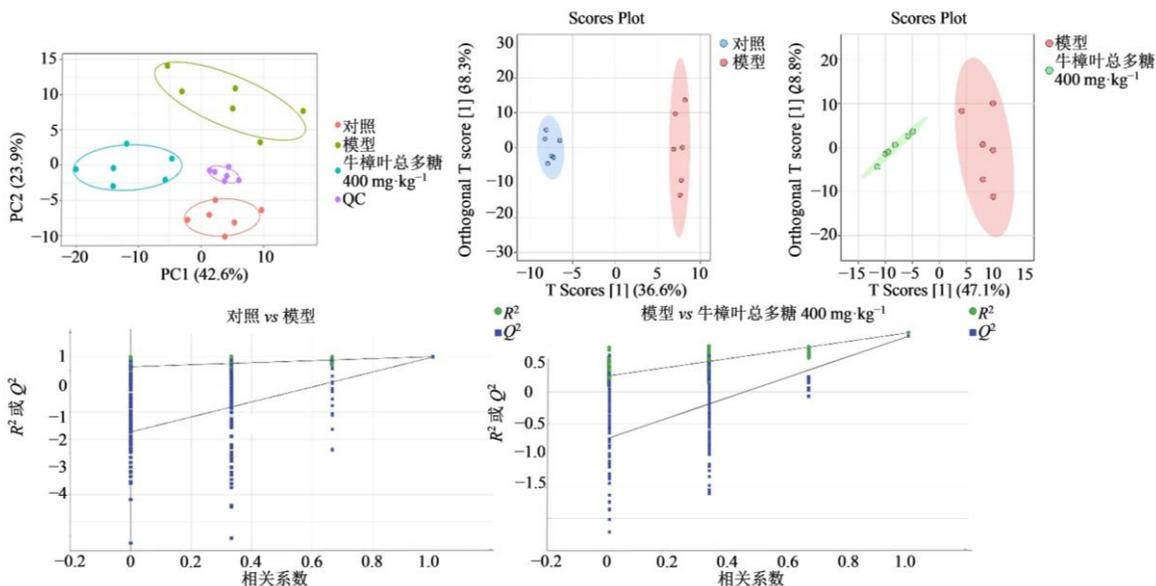


图 4 负离子模式下的 OPLS-DA 得分图及置换检验图

Fig. 4 OPLS-DA score plots and permutation test plot in negative ion mode

计验证，对照组与模型组之间正离子模式下  $R^2_Y=0.994$ 、 $Q^2=0.974$ ，负离子模式下  $R^2_Y=0.997$ 、 $Q^2=0.982$ ；模型组与牛樟叶总多糖高剂量组正离子模式下  $R^2_Y=0.993$ 、 $Q^2=0.976$ ，负离子模式下  $R^2_Y=0.940$ 、 $Q^2=0.885$ 。其中， $R^2_Y$  接近 1、 $Q^2>0.5$  表明模型具有较高的可靠性和预测性。

基于 PCA 和 OPLS-DA 评分，对所有代谢物进行差异分析，并绘制代谢物火山图（图 5）。图中，

代谢物根据其变化趋势以不同颜色标示：红色代表显著上调，蓝色代表显著下调；位于图上方的代谢物则表示其差异具有统计学意义。

**3.3.2 血清代谢物的鉴定** 在正、负离子模式下，基于 OPLS-DA 模型，以  $VIP>1$  且  $P<0.05$  为标准，对各组进行组间差异代谢物进行筛选，共鉴定出 14 个可作为潜在的酒精性肝损伤生物标志物的差异代谢物（表 1）。与对照组相比，模型组上调指

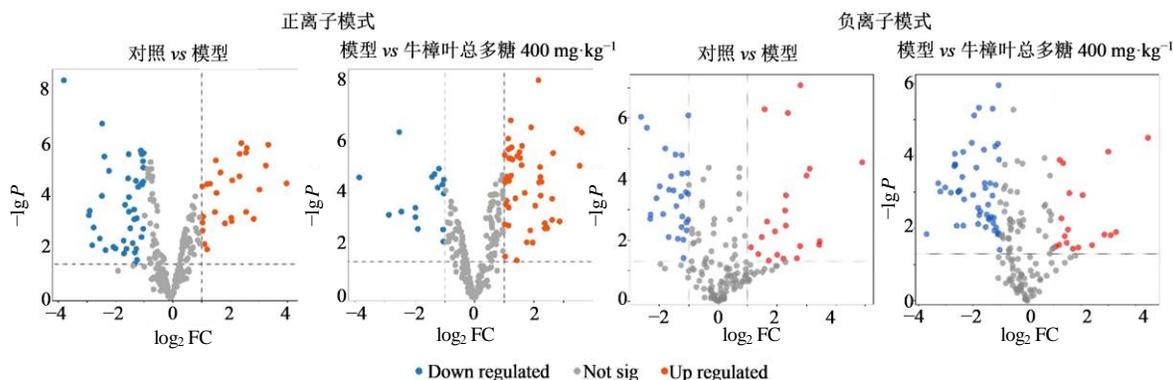


图 5 血清代谢物正离子模式和负离子模式下的火山图

Fig. 5 Volcano plots of positive ion mode and negative ion mode of serum metabolites

表 1 各组血清差异代谢物分析

Table 1 Analysis of differential metabolites in serum of each group

代谢物	分子式	m/z	t/min	检出模式	模型 vs 对照			牛樟叶总多糖高剂量 vs 模型		
					FC	VIP	变化	FC	VIP	变化
牛磺酸	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub> S	126.020 9	0.625	正离子	0.61	1.05	↓	2.22	1.19	↑
L-谷胱甘肽	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> N <sub>6</sub> O <sub>12</sub> S <sub>2</sub>	613.154 6	0.896	正离子	9.45	1.42	↑	0.60	1.12	↓
蛋氨酸亚砷	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> S	166.051 9	0.814	正离子	0.24	1.11	↓	3.03	1.42	↑
皮质醇	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	363.213 7	5.625	正离子	15.62	1.35	↑	0.07	1.34	↓
胆红素	C <sub>33</sub> H <sub>36</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	585.266 4	6.003	正离子	1.26	1.03	↑	0.69	1.17	↓
反式-4-羟基-L-脯氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	132.064 4	0.938	正离子	2.83	1.42	↑	0.44	1.37	↓
L-谷氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	148.059 2	0.627	正离子	0.50	1.28	↓	1.53	1.02	↑
鸟氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	133.096 0	0.530	正离子	0.40	1.06	↓	1.48	1.05	↑
L-吡咯赖氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	130.048 7	0.905	正离子	1.24	1.06	↑	0.78	1.02	↓
L-苯丙氨酸	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	164.072 9	1.562	负离子	1.76	1.58	↑	0.36	1.02	↓
L-酪氨酸	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	180.067 9	0.757	负离子	1.19	1.47	↑	0.78	1.10	↓
尿苷	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	243.064 0	0.902	负离子	2.79	1.46	↑	0.84	1.11	↓
20-羟基花生四烯酸	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	319.230 3	8.185	负离子	1.47	1.27	↑	0.86	1.24	↓
花生四烯酸	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	303.235 0	9.845	负离子	0.85	1.12	↓	1.08	1.29	↑

“↑”-含量上升; “↓”-含量下降。

“↑”-content increases; “↓”-content decreases.

标为 9 个, 下调指标为 5 个; 与模型组相比, 牛樟叶总多糖高剂量组上调指标为 5 个, 下调指标为 9 个。对差异代谢物进行聚类层次分析并绘制聚类热图 (图 6), 从图中可看出, 各组代谢物相对含量的变化趋势, 其中粉色表示物质相对含量上调, 绿色表示下调, 各组组内聚类理想且牛樟叶总多糖高剂量组更接近于对照组。

**3.3.3 代谢通路富集分析** 采用 MetaboAnalyst 5.0 软件对表 1 中差异代谢物进行代谢通路富集分析与拓扑分析。以 VIP>1、P<0.05 且 FC≥2 或 FC≤0.5 为条件, 筛选具有统计学意义的差异代谢物 (图

7)。最终获得 8 条关键代谢通路, 其中谷胱甘肽代谢, 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成, 苯丙氨酸代谢是影响最强的通路, 而精氨酸和脯氨酸代谢、精氨酸生物合成、吡啶代谢、氮代谢及花生四烯酸代谢等通路也在牛樟叶总多糖治疗酒精性肝损伤的过程中发挥重要作用。

### 3.4 肝脏组织脂质组学分析

**3.4.1 代谢轮廓分析** 采用 PCA 对肝脏脂质的代谢轮廓进行分析, 在正、负离子模式下, 肝脏 PCA 评分结果 (图 8) 显示, 在 95%置信区间内 QC 样本明显聚类, 对照组、模型组与牛樟叶总多糖高剂



图 6 血清代谢物聚类热图

Fig. 6 Clustering heatmap of serum metabolites

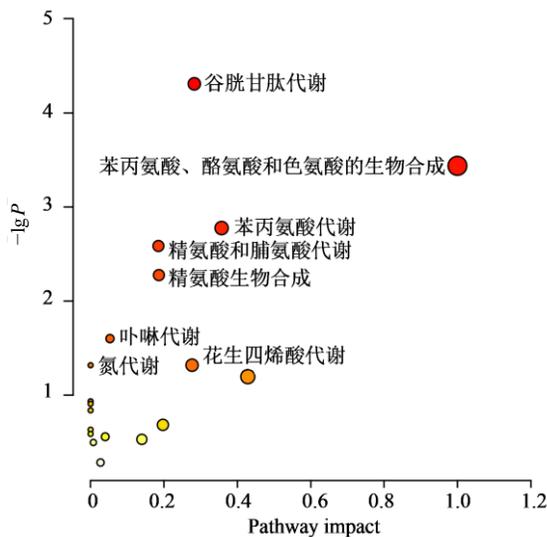


图 7 血清代谢通路图

Fig. 7 Metabolic pathway diagram of serum metabolites

量组 3 组的样本代谢成分呈现分离趋势，尤其是对照组和模型组发生明显分离，说明酒精造成了小鼠肝脏代谢物出现差异，但牛樟叶总多糖高剂量组和对照组的样本更相似，说明牛樟叶总多糖有助于调节酒精引起的肝脏代谢紊乱使代谢轮廓趋向正常状态。

采用 OPLS-DA 模型进一步筛选组间差异。与对照组相比，模型组分离明显说明两组肝脏代谢物间存在着明显差异。与模型组相比，牛樟叶总多糖高剂量组小鼠体内也发生显著变化。对 OPLS-DA 模型进行 200 次置换检 (图 9)，对照组与模型组之

间正离子模式下  $R^2_Y=0.980$ 、 $Q^2=0.973$ ，负离子模式下  $R^2_Y=0.983$ 、 $Q^2=0.970$ ；模型组与牛樟叶总多糖高剂量组正离子模式下  $R^2_Y=0.928$ 、 $Q^2=0.883$ ，负离子模式下  $R^2_Y=0.928$ 、 $Q^2=0.869$ 。其中， $R^2_Y$  接近 1 和  $Q^2>0.5$  表明模型具有较高的可靠性和预测性。

基于 PCA 和 OPLS-DA 评分，对检测到的脂质代谢物进行差异分析，并绘制代谢物火山图 (图 10)。图中，代谢物根据其变化趋势以不同颜色标示：红色代表显著上调，蓝色代表显著下调；位于图上方的代谢物则表示其差异具有统计学意义。

**3.4.2 脂质代谢物的鉴定** 在正、负离子模式下，基于 OPLS-DA 模型，以  $VIP>1$  且  $P<0.05$  为标准，对各组进行组间差异代谢物进行筛选，共得到 28 个差异代谢物 (表 2)，是潜在的酒精性肝损伤生物标志物。与对照组相比，模型组上调指标为 10 个，下调指标为 18 个。与模型组相比，牛樟叶总多糖高剂量组上调指标为 18 个，下调指标为 10 个。进行聚类层次分析并绘制聚类热图 (图 11)。结果显示，在不同组间肝脏差异代谢物区别明显，而组内聚类理想，且牛樟叶总多糖高剂量组更接近于对照组，说明在牛樟叶总多糖干预后酒精引起的肝脏代谢异常得到改善。其中，粉色表示物质相对含量上调，绿色表示下调，各组组内聚类理想且牛樟叶总多糖高剂量组更接近于对照组。

**3.4.3 代谢通路富集分析** 采用 MetaboAnalyst 5.0 软件对表 2 中差异代谢物进行代谢通路富集分析与拓扑分析。筛选出 5 条与牛樟叶总多糖调节肝脏功

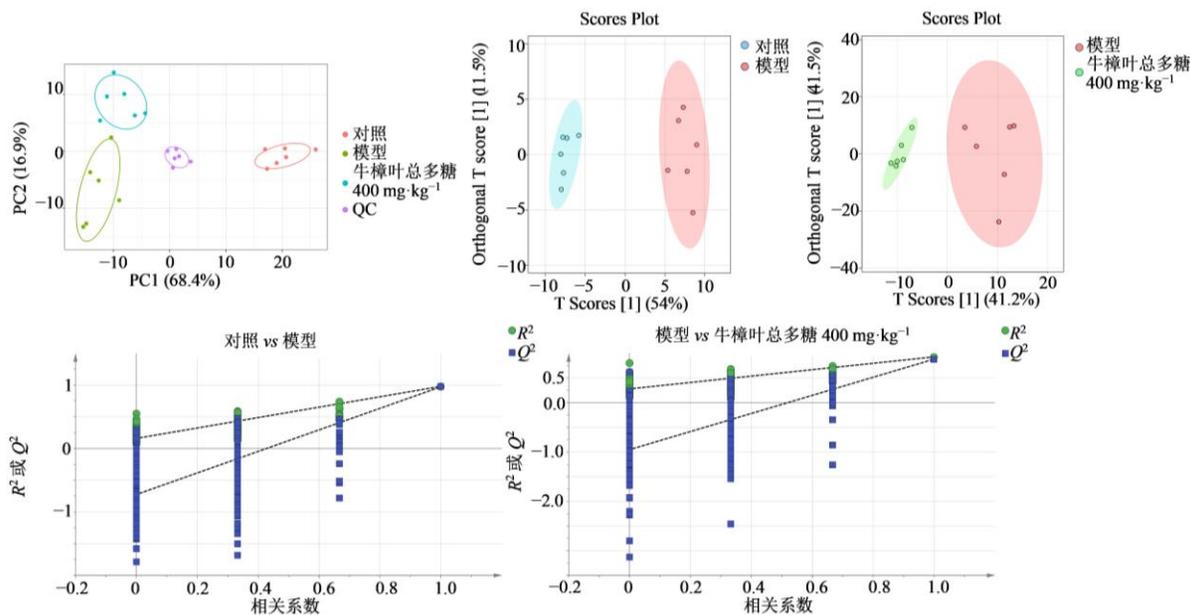


图 8 肝脏脂质代谢正离子模式下的 OPLS-DA 得分图及置换检验图

Fig. 8 OPLS-DA score plots and permutation test plot of liver lipid metabolism in positive ion mode

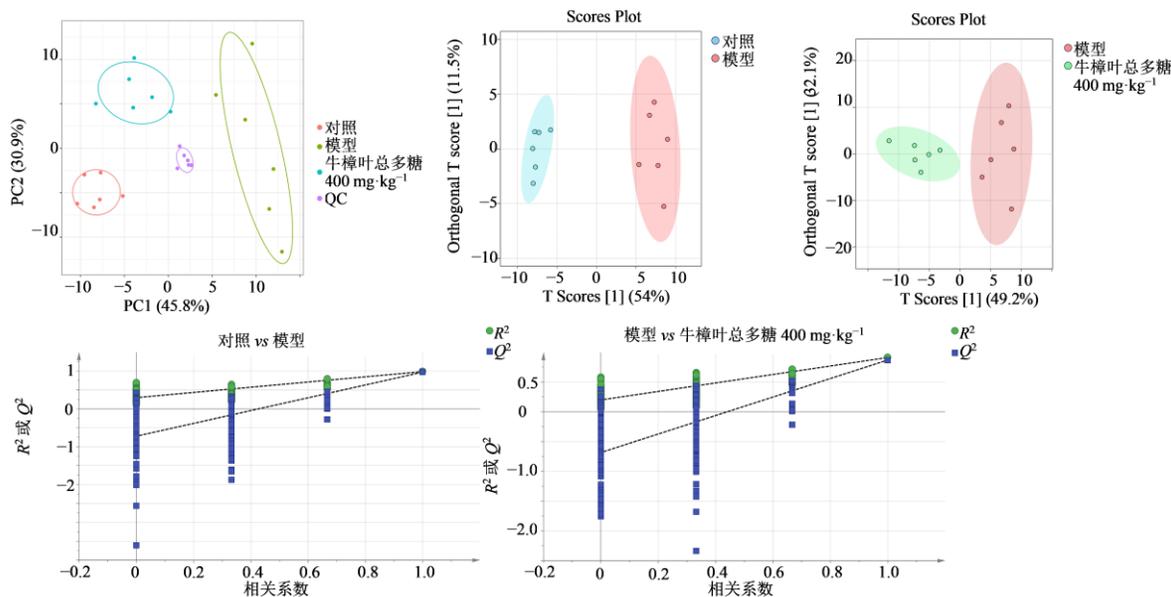


图 9 肝脏脂质代谢负离子模式下的 OPLS-DA 得分图及置换检验图

Fig. 9 OPLS-DA score plots and permutation test plot of liver lipid metabolism in negative ion mode

能密切相关的代谢通路 (图 12)。以  $P \leq 0.05$  为条件, 进一步筛选得到 3 条关键代谢通路分别为: 甘油磷脂代谢、亚油酸代谢、 $\alpha$ -亚麻酸代谢, 这些通路在牛樟叶总多糖调节肝脏功能中发挥重要作用。

### 3.5 血清差异代谢物与肝脏差异代谢物的联系

对 14 种血清差异代谢物 (表 1) 和 28 种肝脏差异代谢物 (表 2) 进行 Spearman 相关性分析, 相

关系数矩阵显示为热图 (图 13)。结果显示, 在这 14 种血清差异代谢物中, *L*-谷胱甘肽、反式-4-羟基-*L*-脯氨酸和 *L*-谷氨酸是与肝脏代谢物关联最为广泛的 3 个关键血清代谢物。

*L*-谷胱甘肽作为氧化应激的关键标志物, 通过调节细胞的氧化还原平衡和脂质代谢, 进而影响磷脂酰乙醇胺 (PE) 的组成及其功能<sup>[19]</sup>; 反式-4-羟

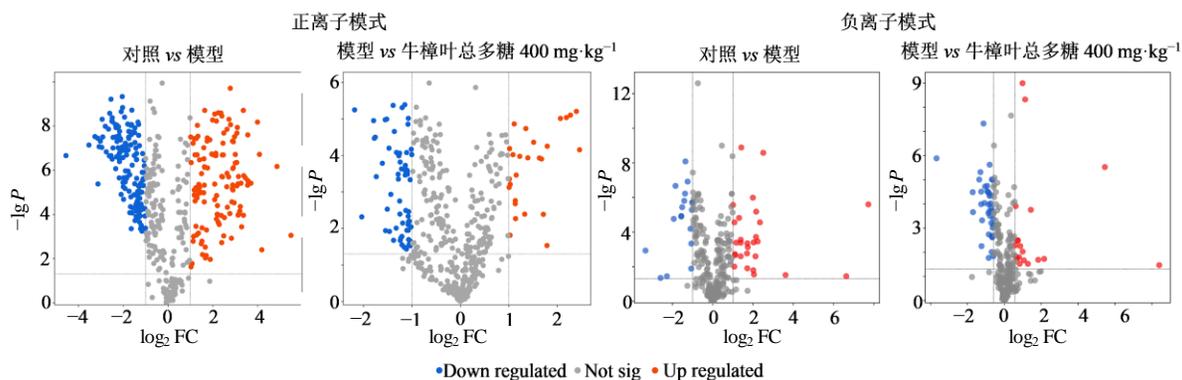


图 10 脂质代谢物正离子模式和负离子模式下的火山图

Fig. 10 Volcano plots of positive ion mode and negative ion mode of lipid metabolites

表 2 各组脂质差异代谢物分析

Table 2 Analysis of differential metabolites of various lipid groups

代谢物	m/z	t/min	检出模式	模型 vs 对照			牛樟叶总多糖高剂量 vs 模型		
				FC	VIP	变化	FC	VIP	变化
PS(40 : 5)	860.541 5	7.452	正离子	3.650 6	1.112	↑	0.411 1	1.369	↓
PE(42 : 8)	816.553 6	12.483	正离子	3.103 4	1.093	↑	0.581 8	1.374	↓
PE(40 : 6)	814.535 7	11.795	正离子	3.371 5	1.120	↑	0.362 1	1.437	↓
PE(40 : 4)	818.566 7	14.206	正离子	0.574 2	1.129	↓	1.310 0	1.179	↑
PE(38 : 6)	786.504 4	10.512	正离子	3.086 6	1.097	↑	0.790 0	1.338	↓
PE(38 : 4)	768.553 9	12.091	正离子	0.724 1	1.077	↓	1.396 2	1.040	↑
PE(36 : 4)	762.504 5	10.823	正离子	3.065 2	1.046	↑	0.588 3	1.231	↓
PC(44 : 5)	892.677 6	13.907	正离子	0.369 4	1.110	↓	2.202 8	1.305	↑
PC(42 : 8)	858.600 5	10.322	正离子	0.394 7	1.126	↓	1.140 2	1.403	↑
PC(42 : 10)	854.569 6	8.887	正离子	0.376 5	1.112	↓	1.557 4	1.401	↑
PC(40 : 8)	830.569 5	9.175	正离子	0.429 3	1.035	↓	1.508 3	1.033	↑
PC(40 : 7)	832.585 3	10.162	正离子	0.470 3	1.095	↓	1.320 8	1.029	↑
PC(40 : 10)	826.535 5	8.954	正离子	0.565 8	1.077	↓	1.975 3	1.161	↑
PC(35 : 4)	768.554 0	12.093	正离子	0.692 8	1.116	↓	1.292 5	1.132	↑
PC(34 : 5)	752.522 4	10.257	正离子	0.500 3	1.110	↓	1.520 8	1.162	↑
PC(34 : 4)	754.538 1	9.116	正离子	0.479 3	1.100	↓	1.129 5	1.172	↑
PC(34 : 1)	760.585 4	11.605	正离子	2.520 6	1.111	↑	0.745 2	1.271	↓
LPC(22 : 6)	568.339 3	1.491	正离子	0.532 1	1.029	↓	2.036 5	1.021	↑
LPC(18 : 2)	520.339 7	1.711	正离子	3.870 7	1.105	↑	0.819 9	1.354	↓
LPC(18 : 1)	522.355 2	0.531	正离子	0.531 2	1.029	↓	1.273 8	1.024	↑
LPC(18 : 0)	524.370 8	3.350	正离子	0.611 7	1.057	↓	1.769 7	1.328	↑
LPC(16 : 0)	496.339 3	2.190	正离子	2.582 8	1.062	↑	0.473 5	1.161	↓
LPC(14 : 0)	468.307 8	1.519	正离子	2.480 1	1.120	↑	0.342 1	1.457	↓
PC(36 : 4)	766.539 2	12.014	负离子	0.479 0	1.171	↓	1.817 5	1.149	↑
PC(34 : 2)	802.560 2	10.575	负离子	4.431 9	1.286	↑	0.406 9	1.338	↓
PC(38 : 4)	854.591 6	11.610	负离子	0.391 1	1.314	↓	1.387 3	1.341	↑
PI(38 : 4)	885.549 8	10.475	负离子	0.600 6	1.337	↓	1.287 4	1.392	↑
LPC(18 : 1)	566.346 3	2.266	负离子	0.572 3	1.276	↓	1.158 9	1.287	↑

“↑”-含量上升;“↓”-含量下降。

“↑”-content increases;“↓”-content decreases.



图 11 脂质代谢物聚类热图

Fig. 11 Clustering heatmap of lipid metabolites

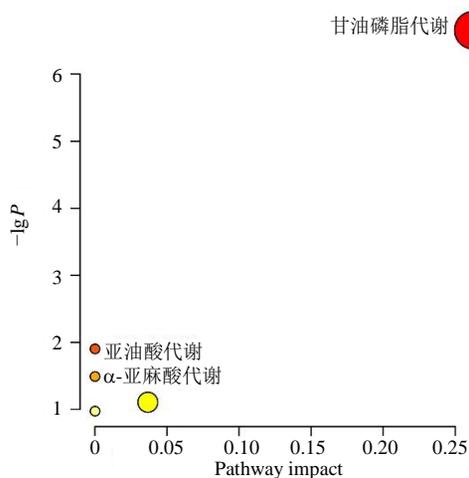


图 12 脂质代谢通路

Fig. 12 Lipid metabolic pathway

基-L-脯氨酸具有抗氧化及抗羟基自由基的能力<sup>[20]</sup>,影响多数磷脂酰胆碱(PC)及部分溶血磷脂酰胆碱(LPC)的代谢,且在肝纤维化的发展中发挥重要作用;而L-谷氨酸在维持代谢稳态和抗氧化防御中起着重要作用<sup>[21]</sup>,与多种磷脂(如PE、PC及LPC)之间存在相互作用,共同维持肝脏脂质代谢与氧化还原平衡。

在 28 种脂质差异代谢物中, LPC (18 : 0)、PE (40 : 6)、PC (42 : 10) 和 PE (42 : 8) 是与血清代

代谢物密切相关的 4 种脂质。LPC (18 : 0) 作为一种结构稳定的溶血磷脂代谢终产物参与机体脂质代谢的调控<sup>[22]</sup>,其水平变化与牛磺酸和皮质醇的调节相关;PE (40 : 6) 和 PE (42 : 8) 是组成细胞膜的重要磷脂类分子,在免疫调节及抗炎反应中发挥重要作用,其氧化过程影响 L-谷胱甘肽和蛋氨酸亚砷的形成<sup>[23]</sup>;而 PC (42 : 10) 作为真核生物膜系统的核心结构脂质<sup>[24]</sup>,其代谢与胆红素和鸟氨酸密切相关,共同反映了肝脏的解毒能力与氧化还原平衡。

通过关联血清代谢物与脂质代谢物,综合反映出机体氧化应激状态与脂质代谢之间的相互作用,这些关键代谢物可能在全身循环与肝脏代谢网络中发挥重要的生理和病理生理学功能,为进一步理解肝脏疾病的机制和代谢调节提供了新的视角。

#### 4 讨论

近年来,ALD 的发病率快速上升,已成为全球肝病死亡的主要原因<sup>[25]</sup>。长期过量饮酒必将导致严重的肝脏损伤<sup>[26]</sup>,因此解析急性酒精性肝损伤的病理机制并探寻安全有效的干预药物,对 ALD 的早期防治具有重要临床意义。

在酒精性肝损伤进程中,脂质代谢紊乱被认为是关键的病理表现之一<sup>[27-28]</sup>,其中 TG、TC、LDL

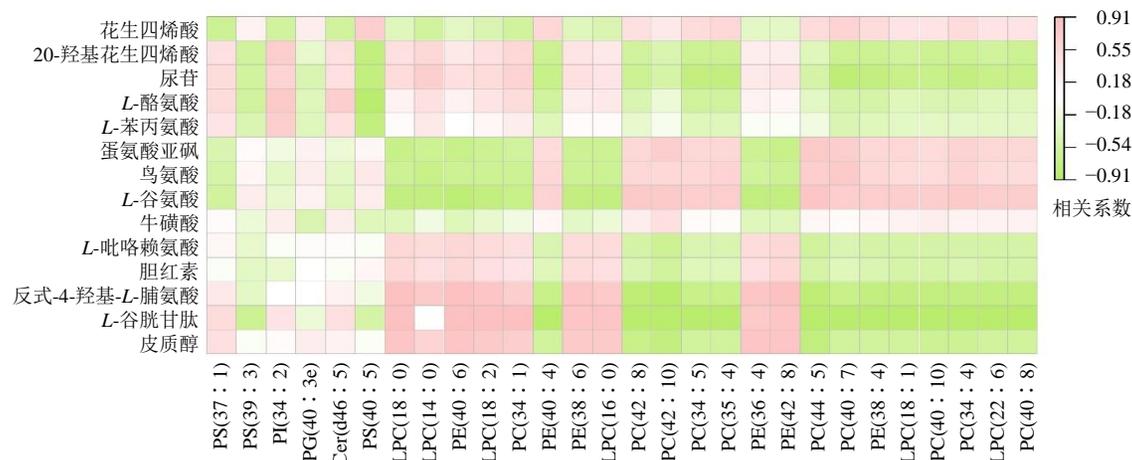


图 13 血清与脂质代谢物相关性分析热图

Fig. 13 Heatmap of correlation analysis between serum and lipid metabolites

和 HDL 是评估脂代谢状态的核心指标。TG、TC 和 LDL 的异常升高与 HDL 的下降，共同提示肝脂肪变性与代谢功能失调<sup>[29-30]</sup>。本研究结果显示，酒精造模后小鼠血清 TG、TC、LDL 水平显著升高，HDL 水平显著降低，提示酒精可通过破坏肝脏脂质稳态，促进脂质在肝细胞内异常蓄积，同时削弱胆固醇逆向转运能力，进而加剧肝损伤进程。而牛樟叶总多糖的干预可剂量相关性逆转上述脂质指标的异常变化，证实其能有效改善酒精诱导的机体脂质代谢紊乱，这也是其发挥肝脏保护作用的重要基础。

血清脂质指标的变化与肝脏磷脂代谢密切相关。TG 的异常蓄积与 PE、PC 的合成代谢失衡相关<sup>[31]</sup>。TC 的代谢紊乱受细胞膜磷脂组成调控<sup>[32]</sup>；LDL 受体的活性表达可被 LPC 等信号脂质调节<sup>[33]</sup>；而 HDL 的生成则依赖肝脏 PC、LPC 的向外流出<sup>[34]</sup>，这也提示牛樟叶总多糖对血清脂质指标的调节作用，可能通过调控肝脏核心脂质分子的代谢实现。

代谢组学研究表明，机体的整体代谢状态会随疾病进程而改变，致使血液和组织液中的代谢物显著波动<sup>[35]</sup>。结合血清与肝脏代谢组学分析，能更全面阐明药物的治疗作用。血清代谢组学结果显示，高剂量牛樟叶总多糖可显著调节急性酒精性肝损伤小鼠血清中 14 种差异代谢物（潜在生物标志物）水平，并通过调控谷胱甘肽代谢、苯丙氨酸代谢等关键通路，有效逆转酒精引发的全身性代谢紊乱。其中，L-谷胱甘肽<sup>[36]</sup>和胆红素<sup>[37]</sup>的下调，直接反映了药物缓解了酒精性肝损伤核心的氧化应激状态与肝细胞负担；而 L-谷氨酸的上调则为谷胱甘肽的合成提供了关键前体<sup>[38]</sup>，协同牛磺酸的上调共

同增强细胞的抗氧化防御能力<sup>[39]</sup>。同时，多糖可逆转酒精导致的蛋白质氧化损伤<sup>[40]</sup>，皮质醇的下调反映全身性应激反应得到缓解<sup>[41]</sup>。此外，鸟氨酸的变化关联氨代谢<sup>[42]</sup>，反式-4-羟基-L-脯氨酸的下调则可能预示着肝纤维化进程受到抑制<sup>[21]</sup>。上述差异代谢物的协同调控，证实牛樟叶总多糖可通过纠正氧化还原失衡、改善肝脏解毒功能、调控氨基酸代谢紊乱，从全身代谢层面发挥抗急性酒精性肝损伤作用。

同时，肝脏脂质代谢组学分析发现牛樟叶总多糖高剂量组可调节的脂质代谢物有 28 个，通过将肝脏代谢物与血清代谢物进行整合性相关性分析，筛选出 LPC(18:0)、PE(40:6)、PC(42:10)、PE(42:8) 4 个与血清代谢物密切相关的核心脂质代谢物。这些脂质分子作为连接肝脏局部损伤与全身性代谢应答的重要桥梁，其水平变化共同指向甘油磷脂代谢等核心脂质通路。在酒精性肝损伤背景下，乙醇的毒性作用会破坏肝细胞膜结构完整性并诱发脂质过氧化<sup>[43]</sup>，而上述脂质代谢物的异常改变正是这一病理过程的直接体现；脂质代谢紊乱不仅会加剧肝细胞膜流动性障碍及线粒体功能损伤<sup>[44]</sup>，还可通过血液循环放大全身性炎症反应与氧化应激<sup>[45]</sup>。更重要的是，这些脂质分子所涉及的甘油磷脂代谢、亚油酸代谢、 $\alpha$ -亚麻酸代谢通路，正是酒精干扰肝脏脂质稳态、促进肝脂肪变性及炎症发生的关键环节<sup>[46-48]</sup>。因此，结合本实验结果推测，牛樟叶总多糖可能通过纠正上述核心肝脏脂质代谢通路异常，稳定肝细胞膜系统，减少促炎脂质衍生物生成，从而从源头上缓解酒精性肝损伤的病理进程。

综上, 牛樟叶总多糖对小鼠急性酒精性肝损伤具有显著的保护作用, 其作用机制与调节肝脏甘油磷脂、亚油酸、 $\alpha$ -亚麻酸等核心脂质代谢通路, 改善机体氧化应激状态, 调控氨基酸代谢紊乱密切相关, 同时可通过调节连接全身代谢与肝脏局部损伤的关键代谢分子, 实现多维度、多靶点的干预效果。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Irshad I, Alqahtani S A, Ikejima K, et al. Energy metabolism: An emerging therapeutic frontier in liver fibrosis [J]. *Ann Hepatol*, 2025, 30(1): 101896.
- [2] Nagarjuna D, Karthikeyan E. Alcohol-associated liver disease: A review [J]. *Gastroenterol Endosc*, 2025, 3(2): 65-85.
- [3] Guan H, Zhang W Y, Liu H, et al. Simultaneous binding of quercetin and catechin to FOXO3 enhances IKK $\alpha$  transcription inhibition and suppression of oxidative stress-induced acute alcoholic liver injury in rats [J]. *J Adv Res*, 2025, 67: 71-92.
- [4] Yu J Y, Sun J G, Sun M, et al. Protective mechanism of *Coprinus comatus* polysaccharide on acute alcoholic liver injury in mice, the metabolomics and gut microbiota investigation [J]. *Food Sci Hum Wellness*, 2024, 13(1): 401-413.
- [5] Wang W M, Zhou K X, Fu Z S, et al. Comparison of different ginsenosides with C-3 or C-6 sugar moieties on activities in alcohol-induced liver injury mice [J]. *J Ginseng Res*, 2025, 49(6): 714-724.
- [6] He Q, Yin Z Q, Chen Y L, et al. Cyanidin-3-*O*-glucoside alleviates ethanol-induced liver injury by promoting mitophagy in a Gao-binge mouse model of alcohol-associated liver disease [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870(6): 167259.
- [7] Lai W W, Zhou S P, Bai Y, et al. Glucosamine attenuates alcohol-induced acute liver injury via inhibiting oxidative stress and inflammation [J]. *Curr Res Food Sci*, 2024, 8: 100699.
- [8] 王晓婷, 曹翠, 刘军锋, 等. 基于肠道菌群代谢探讨黄精多糖对酒精性肝病小鼠的保护作用 [J]. *中草药*, 2025, 56(16): 5814-5825.  
Wang X T, Cao C, Liu J F, et al. Protective effect of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides on mice with alcoholic liver disease based on gut microbiota metabolism [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2025, 56(16): 5814-5825.
- [9] Chen W H, Ko Y Z, Chang H C, et al. Comparative chemical profiling of leaf essential oils from *Cinnamomum kanehirae* and related species using steam distillation and solvent extraction: Implications for plant-based classification [J]. *Heliyon*, 2024, 10(9): e30628.
- [10] Li P H, Shih Y J, Lu W C, et al. Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, and anticancer properties of *Cinnamomum kanehirae* Hayata leaves extracts [J]. *Arab J Chem*, 2023, 16(7): 104873.
- [11] Senthil Kumar K J, Gokila Vani M, Chen C Y, et al. A mechanistic and empirical review of antecins, a new class of phytosterols of Formosan fungi origin [J]. *J Food Drug Anal*, 2020, 28(1): 38-59.
- [12] Liu X F, Yu S Z, Zhang Y, et al. A review on the protective effect of active components in *Antrodia camphorata* against alcoholic liver injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 300: 115740.
- [13] Da F F, Meng Y T, Chen Y F, et al. *Tetracera asiatica* flavonoids attenuate alcohol-induced liver injury by suppressing oxidative stress and inflammation mediated by the Keap-1/Nrf2/HO-1, NF- $\kappa$ B/MAPK and PERK/Nrf2 signaling pathways in alcoholic liver injury rats [J]. *Tissue Cell*, 2025, 96: 102913.
- [14] Wang X X, Liu B, Liu Y J, et al. Antioxidants ameliorate oxidative stress in alcoholic liver injury by modulating lipid metabolism and phospholipid homeostasis [J]. *Lipids*, 2023, 58(5): 229-240.
- [15] Li W L, Tian Y, Wen X S, et al. Liver metabolomics and gut microbiota analysis reveal the alleviation mechanism of wheat bran polyphenols on alcoholic liver disease [J]. *Food Biosci*, 2025, 72: 107457.
- [16] Puhakka E, Ahmed H, Haikonen R, et al. Serum metabolite profile in progressive versus nonprogressive alcohol-related liver disease: A cross-sectional metabolomics study [J]. *Liver Int*, 2025, 45(6): e70128.
- [17] He L Q, Xu R B, Ma X P, et al. Multiomics studies on metabolism changes in alcohol-associated liver disease [J]. *J Proteome Res*, 2024, 23(11): 4962-4972.
- [18] 程金来, 周子玉, 刘丽, 等. 小鼠急性酒精性肝损伤造模方法的比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(7): 26-33, 40.  
Cheng J L, Zhou Z Y, Liu L, et al. Comparison and optimization of acute alcoholic liver injury model in mice [J]. *Chin J Comp Med*, 2023, 33(7): 26-33, 40.
- [19] Feng X F, Huang N F, Wu Y Q, et al. Alcoholic liver disease in China: A disease influenced by complex social factors that should not be neglected [J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2024, 12(7): 677-684.
- [20] Santos M, Melo T, Mauricio T, et al. The non-enzymatic

- oxidation of phosphatidylethanolamine and phosphatidylserine and their intriguing roles in inflammation dynamics and diseases [J]. *FEBS Lett*, 2024, 598(17): 2174-2189.
- [21] 胡小露, 崔树梅, 柯崇榕, 等. 微生物合成 *L*-脯氨酸和反式-4-羟基-*L*-脯氨酸的研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2022, 38(12): 4498-4519.
- Hu X L, Cui S M, Ke C R, et al. Advances on microbial synthesis of *L*-proline and *trans*-4-hydroxy-*L*-proline [J]. *Chin J Biotechnol*, 2022, 38(12): 4498-4519.
- [22] Kumar M A, Baba S K, Khan I R, et al. Glutamine metabolism: Molecular regulation, biological functions, and diseases [J]. *MedComm*, 2025, 6(7): e70120.
- [23] 樊娜娜, 韩清, 鲁静, 等. 血清 1-硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱水平检测对妊娠期糖尿病的诊断价值 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(6): 114-118.
- Fan N N, Han Q, Lu J, et al. Diagnostic value of serum 1-stearoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine level in gestational diabetes mellitus [J]. *J Mod Lab Med*, 2022, 37(6): 114-118.
- [24] 韩龙传, 李悦, 邹智慧, 等. 磷脂酰乙醇胺引起内质网应激促进巨噬细胞衰老及肝损伤 [J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2025, 45(6): 693-704.
- Han L C, Li Y, Zou Z H, et al. Phosphatidylethanolamine promotes macrophage senescence and liver injury by activating endoplasmic reticulum stress [J]. *J Shanghai Jiaotong Univ Med Sci*, 2025, 45(6): 693-704.
- [25] 孙俏俏, 龙伟. 磷脂酰胆碱在代谢综合征相关疾病中的研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2025, 22(26): 159-164.
- Sun Q Q, Long W. Research progress on phosphatidylcholine in metabolic syndrome related diseases [J]. *China Med Her*, 2025, 22(26): 159-164.
- [26] Chen M, Zhong W L, Xu W Q. Alcohol and the mechanisms of liver disease [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2023, 38(8): 1233-1240.
- [27] Lai W W, Zhang J H, Sun J W, et al. Oxidative stress in alcoholic liver disease, focusing on proteins, nucleic acids, and lipids: A review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 278(Pt 3): 134809.
- [28] Meng Z N, Li M Y, Wang X L, et al. *Inula britannica* ameliorates alcohol-induced liver injury by modulating SIRT1-AMPK/Nrf2/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(4): 667-678.
- [29] Han Y, Zee S, Cho K H. Beeswax alcohol and fermented black rice bran synergistically ameliorated hepatic injury and dyslipidemia to exert antioxidant and anti-inflammatory activity in ethanol-supplemented zebrafish [J]. *Biomolecules*, 2023, 13(1): 136.
- [30] Jia L. Dietary cholesterol in alcohol-associated liver disease [J]. *Immunometabolism*, 2023, 5(2): e00026.
- [31] Luque-Urbano M R, Fernández-Ramos D, Lopitz-Otsoa F, et al. *S*-adenosylmethionine deficit disrupts very low-density lipoprotein metabolism promoting liver lipid accumulation in mice [J]. *J Lipid Res*, 2025, 66(5): 100794.
- [32] 王爽, 肖俊, 靳苗, 等. 胆固醇代谢与免疫反应 [J]. *生物医学转化*, 2024, 5(2): 36-45.
- Wang S, Xiao J, Jin M, et al. Cholesterol metabolism and immune response [J]. *Biomed Transform*, 2024, 5(2): 36-45.
- [33] Liu P P, Zhu W, Chen C, et al. The mechanisms of lysophosphatidylcholine in the development of diseases [J]. *Life Sci*, 2020, 247: 117443.
- [34] 黄浩, 梁琼, 王春芳, 等. 高密度脂蛋白在脓毒症中的研究进展 [J]. *右江民族医学院学报*, 2025, 47(2): 346-350.
- Huang H, Liang Q, Wang C F, et al. Research progress of high density lipoprotein in sepsis [J]. *J Youjiang Med Univ Natl*, 2025, 47(2): 346-350.
- [35] Tan A L, Ma X X. Exploring the functional roles of small-molecule metabolites in disease research: Recent advancements in metabolomics [J]. *Chin Chem Lett*, 2024, 35(8): 109276.
- [36] Vairetti M, Di Pasqua L G, Cagna M, et al. Changes in glutathione content in liver diseases: An update [J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3): 364.
- [37] Ramírez-Mejía M M, Castillo-Castañeda S M, Pal S C, et al. The multifaceted role of bilirubin in liver disease: A literature review [J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2024, 12(11): 939-948.
- [38] Kim H H, Choi S E, Jeong W I. Oxidative stress and glutamate excretion in alcoholic steatosis: Metabolic synapse between hepatocyte and stellate cell [J]. *Clin Mol Hepatol*, 2020, 26(4): 697-704.
- [39] Pei J D, Pan G H, Huang P P, et al. The effects of taurine on alcohol-associated liver disease are dose-dependent associated with alterations of taurine-conjugated bile acids and FXR-FGF15 signaling [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2024, 389: 408.
- [40] Davies M J. Methionine oxidation products as biomarkers of oxidative damage to proteins and modulators of cellular metabolism and toxicity [J]. *Redox Biochem Chem*, 2025, 12: 100052.
- [41] Jones C, Gwenin C. Cortisol level dysregulation and its prevalence-Is it nature's alarm clock [J]. *Physiol Rep*, 2021, 8(24): e14644.
- [42] Yang J X, Shi N, Wang S S, et al. Multi-dimensional

- metabolomic profiling reveals dysregulated ornithine metabolism hallmarks associated with a severe acute pancreatitis phenotype [J]. *Transl Res*, 2024, 263: 28-44.
- [43] Yan C Y, Hu W T, Tu J Q, et al. Pathogenic mechanisms and regulatory factors involved in alcoholic liver disease [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 300.
- [44] Fàbrega L, Fernández-Checa J C, Conde de la Rosa L, et al. Impact of mitochondrial lipid alterations on liver disease mechanisms and progression [J]. *Explor Dig Dis*, 2024: 382-413.
- [45] Xu L N, Yang Q Q, Zhou J H. Mechanisms of abnormal lipid metabolism in the pathogenesis of disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(15): 8465.
- [46] Cao P, Wu Y, Li Y P, et al. The important role of glycerophospholipid metabolism in the protective effects of polyphenol-enriched Tartary buckwheat extract against alcoholic liver disease [J]. *Food Funct*, 2022, 13(20): 10415-10425.
- [47] Warner D, Vatsalya V, Zirnheld K H, et al. Linoleic acid-derived oxylipins differentiate early stage alcoholic hepatitis from mild alcohol-associated liver injury [J]. *Hepatol Commun*, 2021, 5(6): 947-960.
- [48] Gao Y J, Zheng B F, Xu S Q, et al. Mitochondrial folate metabolism-mediated  $\alpha$ -linolenic acid exhaustion masks liver fibrosis resolution [J]. *J Biol Chem*, 2023, 299(7): 104909.

[责任编辑 孙英杰]