

基于网络药理学和实验验证探讨丹皮酚对酒精性肝病小鼠的作用机制

王紫柠¹, 蒲浩¹, 王清如¹, 颜贵明^{2,3*}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012

2. 安徽中医药大学护理学院, 安徽 合肥 230012

3. 安徽中医药大学 老年护理与健康实验室, 安徽 合肥 230012

摘要: **目的** 基于网络药理学、分子对接和动物实验探索丹皮酚治疗酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 的作用及作用机制。**方法** 利用 PharmMapper 数据平台检索丹皮酚相关靶点, 在 DisGeNET、GeneCards 和 OMIM 疾病数据库筛选 ALD 相关基因, 通过检索 GEO 数据库获得 ALD 芯片并筛选差异基因, 基于 WGCNA 筛选与疾病相关的基因模块, 在疾病数据库、差异基因及 WGCNA 分析基因取交集, 获得 ALD 相关基因, 与丹皮酚靶点取交集, 获得丹皮酚治疗 ALD 的相关靶点, 进行相关性分析及基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 利用最小绝对收缩和选取算子 (least absolute shrinkage and selection operator, LASSO) 回归筛选靶点, 然后进行分子对接验证。采用 Lieber-DeCarli 酒精液体饲料自由饮食的方法建立 ALD 小鼠模型, 设置对照组、模型组、水飞蓟宾 (36.8 mg/kg) 组和丹皮酚高、低剂量 (480、120 mg/kg) 组, 每组 8 只, 给予药物进行干预。通过检测血脂、肝功能、炎症因子水平评估药效作用, 采用苏木素-伊红 (HE) 与油红 O 染色观察肝脏病理学变化, 采用 Western blotting 和 qRT-PCR 检测肝组织中脂肪酸结合蛋白 4 (fatty acid binding protein 4, FABP4)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPAR α)、肉碱棕榈酰转移酶 1A (carnitine palmitoyltransferase 1A, CPT1A) 表达水平。**结果** 筛选药物靶点 88 个、疾病靶点 516 个, 交集靶点 13 个。GO 和 KEGG 富集分析共得到 835 条生物功能和 70 条通路。通过 LASSO 回归算法筛选得到 7 个靶点。分子对接结果显示丹皮酚与 FABP4、PPAR α 结合能均小于 -5 kcal/mol。动物实验结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠肝功能、血脂及炎症因子水平显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), 肝脏组织出现炎症浸润和脂肪空泡; 与模型组比较, 丹皮酚改善了小鼠的肝功能、血脂及炎症因子水平 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 恢复了肝细胞的正常结构, 减少了肝脏脂肪空泡。Western blotting 和 qRT-PCR 结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠肝脏组织中 FABP4 的蛋白和 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), PPAR α 和 CPT1A 的蛋白和 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 丹皮酚显著降低 FABP4 的蛋白和 mRNA 表达水平 ($P < 0.05$ 、 0.001), 上调 PPAR α 和 CPT1A 的蛋白和 mRNA 表达水平 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 丹皮酚通过下调 FABP4 并上调 PPAR α 和 CPT1A 表达以改善脂质代谢。

关键词: 丹皮酚; 酒精性肝病; 脂质代谢; FABP4; PPAR α ; CPT1A

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)18-6644-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.18.014

Mechanism of paeonol on mice with alcoholic liver disease based on network pharmacology and experimental verification

WANG Zining¹, PU Hao¹, WANG Qingru¹, YAN Guiming^{2,3}

1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

2. School of Nursing, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

3. Geriatric Care and Health Laboratory, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

Abstract: Objective To explore the effect and mechanism of paeonol in treatment of alcoholic liver disease (ALD) based on network pharmacology, molecular docking and animal experiments. **Methods** PharmMapper data platform was utilized to retrieve targets related to paeonol. ALD related genes were screened from DisGeNET, GeneCards and OMIM disease databases, ALD chips was

收稿日期: 2025-05-27

基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目 (2022AH050521)

作者简介: 王紫柠, 硕士研究生, 从事中药防治酒精肝病研究。E-mail: 18130144381@163.com

*通信作者: 颜贵明, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中药防治酒精性肝病方向研究。E-mail: 922-119@163.com

obtained by searching GEO databases and screening for differentially expressed genes, disease-related gene modules was screened based on WGCNA, ALD related genes was obtained by analyzing the intersection of genes from disease databases, differentially expressed genes and WGCNA derived genes, and then intersecting with paeonol targets to obtain relevant targets for paeonol in treatment of ALD, correlation analysis and gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed, least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) regression was used to screen targets, followed by molecular docking validation. The Lieber DeCarli alcohol liquid feed free diet method was used to establish an ALD mouse model. Control group, model group, silibinin (36.8 mg/kg) group, and paeonol high-, low-dose (480, 120 mg/kg) groups were set up, with eight mice in each group, and drugs were administered for intervention. The pharmacological effect was evaluated by detecting blood lipid levels, liver function indexes and levels of inflammatory factors. Hematoxylin-eosin (HE) and oil red O staining were used to observe pathological changes in liver. Western blotting and qRT-PCR were used to detect the expression levels of fatty acid binding protein 4 (FABP4), peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR α) and carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A) in liver tissue. **Results** A total of 88 drug targets, 516 disease targets and 13 intersecting targets were screened. A total of 835 biological functions and 70 pathways were obtained by GO and KEGG enrichment analysis. Seven targets were screened by LASSO regression algorithm. Molecular docking results showed that the binding energies of paeonol to FABP4 and PPAR α were less than -5 kcal/mol. The results of animal experiments showed that compared with control group, levels of liver function indexes, blood lipid levels and inflammatory factors in model group mice were significantly increased ($P < 0.01, 0.001$), inflammation infiltration and fat vacuoles were appeared in liver tissue. Compared with model group, paeonol improved the levels of liver function indexes, blood lipid levels and inflammatory factors in mice ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), restored the normal structure of liver cells, and reduced hepatic fat vacuoles. Western blotting and qRT-PCR results showed that compared with control group, the protein and mRNA expression levels of FABP4 in liver tissue of model group mice were significantly increased ($P < 0.01, 0.001$), while the protein and mRNA expression levels of PPAR α and CPT1A were significantly decreased ($P < 0.001$). Compared with model group, paeonol significantly reduced the protein and mRNA expression levels of FABP4 ($P < 0.05, 0.001$), and up-regulated the protein and mRNA expression levels of PPAR α and CPT1A ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Paeonol improves lipid metabolism by down-regulating FABP4 and up-regulating PPAR α and CPT1A expressions.

Key words: paeonol; alcoholic liver disease; lipid metabolism; FABP4; PPAR α ; CPT1A

酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 是由长期饮酒引起的疾病, 是肝脏相关发病率和死亡率的最常见原因之一^[1]。酒精使肝病相关死亡风险增加 260 倍, 心血管死亡率增加 3.2 倍, 癌症死亡率增加 5.1 倍^[2-3]。在全球范围内, 目前有 43% 的人口饮酒。酗酒已成为全球疾病、残疾和死亡的重要风险因素^[4-5]。中国的 ALD 患者人数大幅增加 (目前超过 6 200 万)^[6], ALD 已成为不可忽视的公共卫生问题。ALD 的发病机制复杂, 包括氧化应激、脂肪生成、炎症、纤维化、细胞凋亡和器官间串扰, 这给 ALD 的药物治疗研究带来了重大挑战^[7-8]。尽管已有诸多研究对 ALD 展开, 但目前仍然缺乏治疗的有效措施和药物。

丹皮酚是从牡丹皮 *Moutan Cortex* 中提取的一种天然酚类化合物, 具有多种生物活性^[9], 包括抗炎、抗心血管疾病、抗衰老和缓解神经性疼痛^[10-13], 已被国家食品药品监督管理总局批准用于治疗炎症性疾病^[11]。课题组前期研究结果表明, 丹皮酚可以恢复酒精引起的肝脏氧化应激损伤与炎症损伤, 还可以通过调节肠道菌群, 修复肠屏障, 改善小鼠

酒精性肝损伤^[14-15]。为了进一步探究丹皮酚治疗 ALD 的作用机制, 本研究采用生物信息分析丹皮酚治疗 ALD 的靶点、分子机制及信号通路^[16]并结合动物实验验证, 为丹皮酚治疗 ALD 提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

40 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠, 体质量 (20 ± 2) g, 购自杭州子源实验动物科技有限公司, 动物合格证号 20240923Abzz0105000667。动物饲养于安徽中医药大学护理学院实验动物中心, 温度 (22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 (60 ± 2) %, 明暗交替。动物实验经安徽中医药大学动物伦理委员会批准 (批准号 AHUCM-mouse-2025025)。

1.2 药品与试剂

丹皮酚 (批号 C15801192, 质量分数为 98%) 购自上海源叶生物科技有限公司; 水飞蓟宾 (批号 050710059) 购自天津天士力圣特制药有限公司; 对照液体饲料 (批号 20240829)、酒精液体饲料 (批号 20240911) 购自戴茨生物科技有限公司; 苏木素-伊红 (HE) 试剂盒 (货号 G1004)、饱和油红 O 染

液(货号 G1015)购自武汉赛维尔生物科技有限公司;丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)试剂盒(批号 20241018)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒(批号 20241017)、三酰甘油(triglyceride, TG)试剂盒(批号 20241021)、总胆固醇(total cholesterol, TC)试剂盒(批号 20241017)购自南京建成生物工程研究所;白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)试剂盒(批号 202410)、IL-1 β 试剂盒(批号 202410)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)试剂盒(批号 202410)购自南京森贝伽生物科技有限公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(货号 GB15003)购自武汉赛维尔生物科技有限公司;脂肪酸结合蛋白 4(fatty acid binding protein 4, FABP4)抗体(货号 12802-1-AP)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPAR α)抗体(货号 15184-1-AP)、肉碱棕榈酰转移酶 1A(carnitine palmitoyltransferase 1A, CTP1A)抗体(货号 66826-1-Ig)购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 仪器

Labserve K3 型酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);CM1950 型冷冻切片机(德国 Leica 公司);WS-10 型数字化全景扫描仪(智跃医疗科技有限公司);VE-180 型微型垂直电泳槽、VE-586 型转移电泳槽(上海天能生命科学有限公司);ABI7500 型实时荧光定量 PCR 仪(瑞士罗氏公司)。

2 方法

2.1 生物信息学研究

2.1.1 丹皮酚靶点预测 在 PharmMapper 数据库(<https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)检索丹皮酚相关靶点。

2.1.2 ALD 基因集获取及差异基因分析 采用多数据库联合分析方法筛选 ALD 相关基因。首先通过 DisGeNET(<https://www.disgenet.org/>)、GeneCards(<https://www.genecards.org/>)及 OMIM(<https://www.omim.org>) 3 大疾病数据库,以“alcoholic liver disease”为检索词获取疾病相关基因。随后从 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>)下载 GSE28619 数据集,运用 R 语言“limma”包进行芯片数据标准化处理与差异表达分析,筛选标准设定为 $|\log_2$ 差异倍数(fold change, FC)|>1.5 且校正

$P<0.01$ 的显著性差异基因。进一步采用 WGCNA 算法对 GSE28619 的 22 个样本进行共表达网络构建,通过模块特征基因分析鉴定与疾病表型高度关联的核心模块。最终整合 3 个数据库的筛选结果,取基因交集确定 ALD 的关键候选基因。

2.1.3 丹皮酚治疗 ALD 相关靶点的相关性分析 将丹皮酚的作用靶点与 ALD 相关基因进行交集分析,获得丹皮酚治疗 ALD 的相关靶点。将靶点导入 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org>)构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。为进一步阐明其分子机制,利用 GeneMANIA 平台(<https://genemania.org>)对靶点及其邻近基因进行功能关联分析,包括基因共表达、物理相互作用、通路共参与等关系网络构建。

2.1.4 丹皮酚治疗 ALD 相关靶点的富集分析 采用 clusterProfiler 软件包开展基因本体(gene ontology, GO)功能和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,筛选 $P<0.05$ 具有生物学意义的富集条目。

2.1.5 最小绝对收缩和选取算子(least absolute shrinkage and selection operator, LASSO)回归 获取的疾病特征基因进一步筛选丹皮酚治疗 ALD 的相关靶点,采用 LASSO 回归算法进行特征筛选。基于 R4.4.1 平台,运行 glmnet、tidyverse 及 broom 3 个 R 包,建立 LASSO 回归模型。

2.1.6 分子对接验证 从 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载丹皮酚的 2D 结构,在 Chem 3D 软件进行结构优化。在 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载目标蛋白结构。通过 AutoDock Vina 工具对 FABP4 和 PPAR α 靶点进行分子对接,对接结果通过 Pymol3.03 软件进行 3D 可视化。

2.2 ALD 小鼠模型构建、分组与给药

考虑到丹皮酚的口服利用度有限,本研究参考课题组前期结果及相关文献资料,确定丹皮酚的给药剂量为 120、480 mg/kg^[14-15,17-20]。40 只 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、水飞蓟宾(36.8 mg/kg)组和丹皮酚高、低剂量(480、120 mg/kg)组,每组 8 只。对照组给予对照液体饲料喂养,其余小鼠给予 Lieber-DeCarli 酒精液体饲料喂养,造模期间,每日记录小鼠体质量并更换新鲜液体饲料。造模同时,各给药组 ig 相应药物,对照组和模

型组 ig 等体积的 0.5% 羧甲基纤维素钠 (carboxymethylcellulose sodium, CMC-Na) 溶液, 1 次/d, 连续给药 10 d。末次给药后, 小鼠禁食 12 h (自由饮水), 对照组 ig 等体积的糊精溶液, 其余小鼠 ig 31.5% 酒精溶液, 禁食 9 h 后麻醉眼球取血, 采用颈椎脱臼法处死动物, 并在冰盒上取出肝脏组织, 用生理盐水清洗后于 -80 °C 保存。

2.3 肝脏组织病理学观察

取各组小鼠肝右叶, 在 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h, 石蜡包埋、切片处理后, 进行 HE 染色, 于显微镜下观察肝脏病理变化。

2.4 肝脏脂质沉积检测

采用油红 O 染色检测肝组织脂质蓄积情况。新鲜肝组织经 OCT 包埋剂包埋, 速冻后切片并使用 4% 多聚甲醛固定 10 min, 进行油红 O 染色, 于显微镜下观察并拍照, 采用 Image J 软件定量分析脂质沉积面积百分比。

2.5 血脂、肝功能测定

收集小鼠血清样本, 利用生化试剂盒检测小鼠血清中 ALT、AST 活性及 TG、TC 水平。

2.6 血清炎症因子水平测定

按照 ELISA 试剂盒检测各组小鼠血清中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平。

2.7 Western blotting 检测肝组织 FABP4、PPAR α 、CPT1A 蛋白表达

将肝脏组织从 -80 °C 冰箱中取出, 提取肝脏组织总蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于室温封闭 2 h。加入一抗 (1:1 000), 4 °C 孵育过夜; 洗涤后, 加入二抗 (1:10 000), 室温孵育 1 h, 加入 ECL 显色液进行显色曝光后, 采用 Image J 软件对目的条带进行灰度值分析。

2.8 qRT-PCR 检测肝组织 FABP4、PPAR α 、CPT1A 的 mRNA 表达

取各组肝脏组织, 加入 Trizol 试剂研磨, 按照试剂盒说明书提取总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析。扩增反应条件: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 20 s, 70 °C 延伸 20 s, 循环 40 次。通过 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 方法计算 mRNA 的相对表达量。引物由武汉赛维尔生物科技有限公司合成, 引物序列见表 1。

2.9 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析, 计量资料

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	序列 (5'-3')	长度/bp
FABP4	F: GGTGACAAGCTGGTGGGAATG	75
	R: TCCTTTGGCTCATGCCCTTT	
PPAR α	F: ACGAAGCCTACCTGAAGAAGT	194
	R: GCAGTGAAGAATCGGACCT	
CPT1A	F: CTCCGCTGAGCCATGAAG	100
	R: CACCAGTGATGATGCCATTCT	
GAPDH	F: ACCCTTAAGAGGGATGCTGC	130
	R: CCCAATACGGCCAAATCCGT	

以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 方差齐采用单因素方差分析, 方差不齐采用非参数检验。

3 结果

3.1 丹皮酚靶点的预测

在 PharmMapper 数据库检索, 条件可能性 > 0.4, 收集到丹皮酚相关靶点 67 个。

3.2 ALD 差异基因分析

在 DisGeNET、GeneCards 和 OMIM 疾病数据库以 “alcoholic liver disease” 检索分别得到 195、3 315 和 1 187 个疾病相关基因, 整合并去重后得到 4 283 个疾病基因。同时, 从 GEO 数据库中检索得到与 ALD 相关的人类基因数据集 GSE28619, 数据集基于芯片 GPL570, 包括 7 例正常肝样本, 15 例酒精肝样本。均一化处理后, 鉴定出 2 622 个差异表达基因, 其中 1 126 个上调基因、1 496 个下调基因 (图 1-A)。进一步使用 WGCNA 分析 GSE28619 数据集的基因表达矩阵显示, 黑色模块包含 2 280 个基因, 它们与 ALD 的相关性为 0.97 ($P=3.8 \times 10^{-13}$) (图 1-B)。从数据库得到 ALD 相关基因、GSE28619 差异基因和 WGCNA 中黑色模块相关基因, 获得了 516 个与 ALD 相关的重要基因 (图 1-C)。

3.3 丹皮酚治疗 ALD 相关靶点网络分析

通过 Venny 图分析获得 13 个丹皮酚治疗 ALD 的相关靶点 (图 2-A), 分别为醛酮还原酶家族 1 成员 B1 (aldo-keto reductase family 1 member B1, AKR1B1)、丁酰胆碱酯酶 (butyrylcholinesterase, BCHE)、胱硫醚 β -合成酶 (cystathionine beta-synthase, CBS)、组织蛋白酶 K (cathepsin K, CTSK)、环氧水解酶 2 (epoxide Hydrolase 2, EPHX2)、凝血因子 II (coagulation factor II, F2)、FABP4、糖基磷脂酰肌醇 (glycosylphosphatidylinositol, GPI)、热休克蛋白 90 α 家族 A 类成员 1 (heat shock protein 90 alpha family class A member 1, HSP90AA1)、肌昔单磷酸脱氢酶 2 (inosine monophosphate dehydrogenase

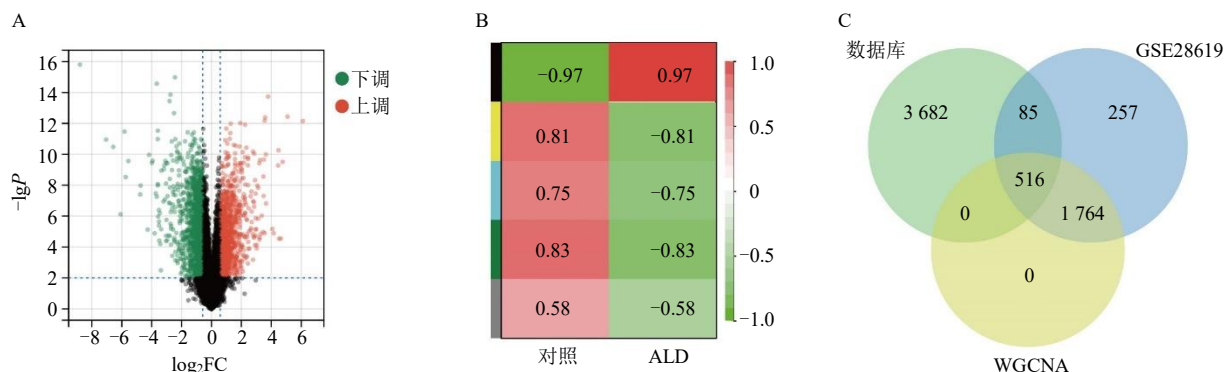


图 1 ALD 相关差异基因
Fig. 1 Differential genes associated with ALD

A-differential gene expression heatmap; B-WGCNA clinical characteristic heatmap; C-intersection Venn diagram of ALD related genes, GSE28619 differentially expressed genes and black module related genes obtained from WGCNA database.

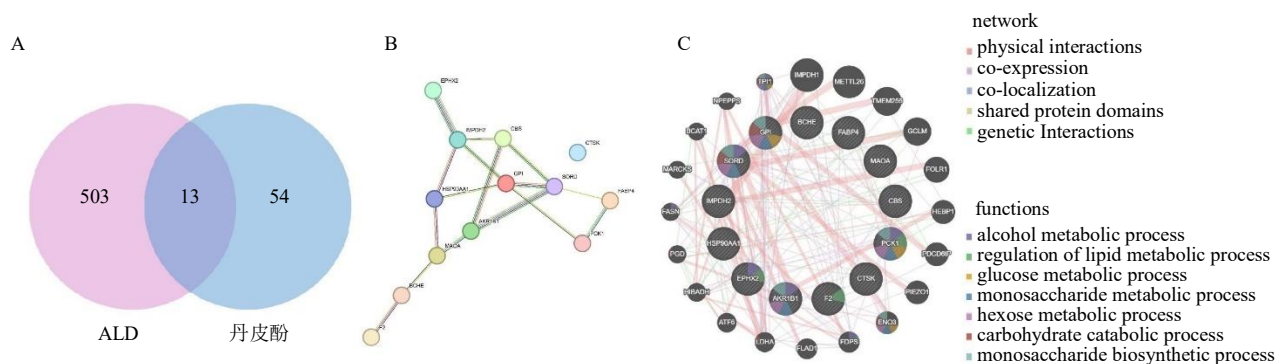


图 2 丹皮酚和 ALD 相关靶点交集及网络分析
Fig. 2 Intersection and network analysis of paeonol and ALD related targets

2, IMPDH2)、单胺氧化酶 A (monoamine oxidase A, MAOA)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 1 (phosphoenolpyruvate carboxy kinase 1, PCK1)、山梨醇脱氢酶 (sorbitol dehydrogenase, SORD)。STRING 分析显示靶点间相互作用 (图 2-B)。GeneMANIA 揭示靶点主要调控酒精代谢过程、脂质代谢过程的调节、葡萄糖代谢过程、单糖代谢过程、己糖代谢过程、碳水化合物分解代谢过程、单糖生物合成工艺等生物学过程 (图 2-C)。

3.4 丹皮酚治疗 ALD 相关靶点的 GO 和 KEGG 富集分析

GO 富集分析得到 825 条 GO 条目,以 $P < 0.05$ 挑选排名前 10 的条目绘制圈图 (图 3-A),己糖生

物合成工艺和单糖生物合成过程在生物过程 (biological process, BP) 富集,髓鞘和分泌颗粒管腔在细胞成分 (cellular component, CC) 富集,泛素蛋白连接酶结合和生长因子活性在分子功能 (molecular function, MF) 富集。KEGG 通路富集分析得到 75 条通路,以 $P < 0.05$ 挑选排名前 20 的通路绘制条状图 (图 3-B),包括果糖和甘露糖代谢、戊糖和葡萄糖醛酸的相互转化、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、糖酵解/糖原生成和 PPAR 信号通路等途径。

3.5 LASSO 回归筛选核心基因

为进一步筛选丹皮酚治疗 ALD 的靶点,建立 LASSO 回归模型 (图 4)。LASSO 逻辑回归算法通

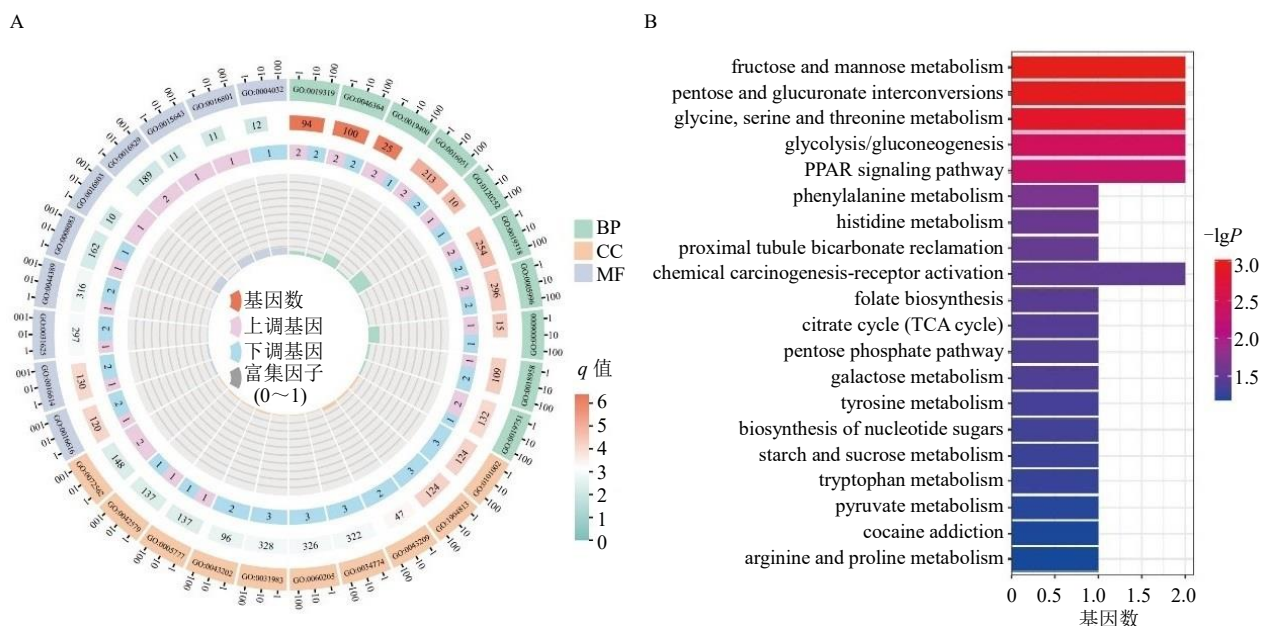


图 3 GO (A) 和 KEGG (B) 富集分析
Fig. 3 GO (A) and KEGG (B) enrichment analysis

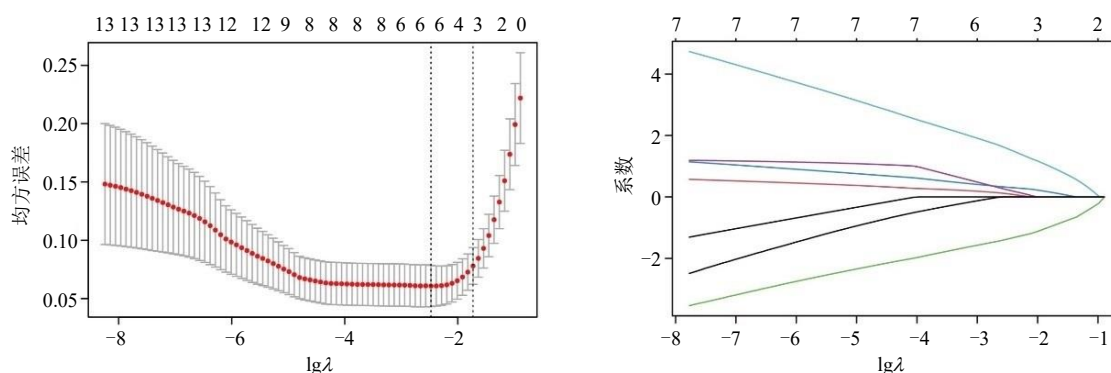


图 4 LASSO 回归
Fig. 4 LASSO regression

过 10 倍交叉验证, 共获取了 7 个相关靶点, 分别为 CBS、CTSK、EPHX2、FABP4、GPI、IMPDH2 和 PCK1。有研究发现丹皮酚可以抑制 3T3-L1 脂肪细胞中 FABP4 的 mRNA 和蛋白表达水平, 抑制脂质形成并促进脂质降解^[21]。提示 FABP4 不仅为丹皮酚治疗 ALD 的潜在靶点, 还可改善脂质代谢。

3.6 分子对接验证

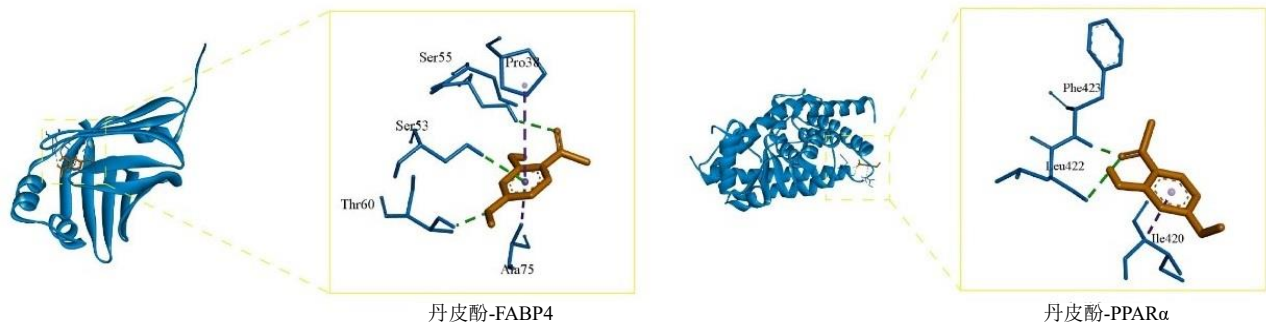
KEGG 通路富集分析发现 PPAR 是比较显著的通路, 其中 PPAR α 在脂质代谢、炎症调控和氧化应激中发挥关键作用, 已被证实是治疗 ALD 的潜在靶点^[22-23]。因此, 选择 PPAR α 和 FABP4 进行分子

对接验证。分子与靶蛋白的最低结合能均 <0 , 说明配体与受体可以自发结合。分子对接结果 (表 2 和图 5) 显示, 丹皮酚与 FABP4 和 PPAR α 的结合能均小于 -5 kcal/mol (1 kcal/mol $=4.182$ kJ/mol), 可有效结合。

表 2 分子对接结合能

Table 2 Molecular docking binding energy		
蛋白	PDB ID	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
FABP4	3P6D	-6.3
PPAR α	6KAY	-6.5

1 kcal·mol⁻¹ $=4.182$ kJ·mol⁻¹



绿色虚线表示氢键作用，紫色虚线表示疏水作用。
Green dashed line represents hydrogen bonding, while purple dashed line represents hydrophobic interaction.

图 5 分子对接可视化结果
Fig. 5 Molecular docking visualization results

3.7 丹皮酚对 ALD 小鼠体质量及肝脏系数的影响
如表 3 所示，与对照组比较，模型组小鼠体质量明显下降 ($P<0.001$)，肝脏系数显著升高 ($P<0.001$)，提示肝脂质沉积；与模型组比较，各给药组小鼠体质量显著升高 ($P<0.05$ 、 0.001)，肝脏系数显著降低 ($P<0.01$ 、 0.001)。

3.8 丹皮酚对 ALD 小鼠肝脏病理及脂质变化的影响
肝脏 HE 染色结果 (图 6) 显示，对照组小鼠的肝脏组织结构完整，细胞排列整齐，肝小叶结构清晰；模型组小鼠的肝脏组织结构变得松散，出现空泡变性，细胞间隙变宽；与模型组比较，丹皮酚

高、低剂量组小鼠肝脏组织均有不同程度改善，其中丹皮酚高剂量组改善效果最佳，表明丹皮酚可明显减轻 ALD 小鼠肝脏组织病理改变。
油红 O 染色结果 (图 7) 显示，与对照组比较，模型组小鼠肝脏中有较大量的脂肪沉积，脂肪液滴明显增多。给予丹皮酚干预后，小鼠肝脏组织中的脂滴数量和面积均明显减少，且呈剂量相关性。采用 Image J 软件对油红 O 染色面积进行统计，结果显示，与对照组比较，模型组肝脏脂肪液滴显著增加 ($P<0.05$)；与模型组比较，各给药组肝脏脂肪液滴显著减少 ($P<0.05$ 、 0.01)，表明丹皮酚能够有效减轻酒精引起的肝脏脂质蓄积。

表 3 丹皮酚对 ALD 小鼠体质量及肝脏系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 3 Effect of paeonol on body weight and liver coefficient of ALD mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g		肝脏质量/g	肝脏系数/%
		给药前	给药后		
对照	—	21.97±0.98	24.12±0.66	0.81±0.05	3.34±0.24
模型	—	22.02±0.51	19.13±0.69 ^{###}	1.12±0.10 ^{###}	5.87±0.60 ^{###}
水飞蓟宾	36.8	21.98±1.48	20.33±0.87 ^{***}	0.86±0.05 ^{***}	4.21±0.23 ^{***}
丹皮酚	480	22.23±0.89	20.79±0.50 ^{***}	0.84±0.07 ^{***}	4.04±0.35 ^{***}
	120	22.19±0.97	20.05±0.48 [*]	0.95±0.06 ^{**}	4.71±0.31 ^{**}

与对照组比较：^{##} $P<0.01$ ^{###} $P<0.001$ ；与模型组比较：^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ ，下表同。
^{##} $P<0.01$ ^{###} $P<0.001$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs model group, same as below tables.

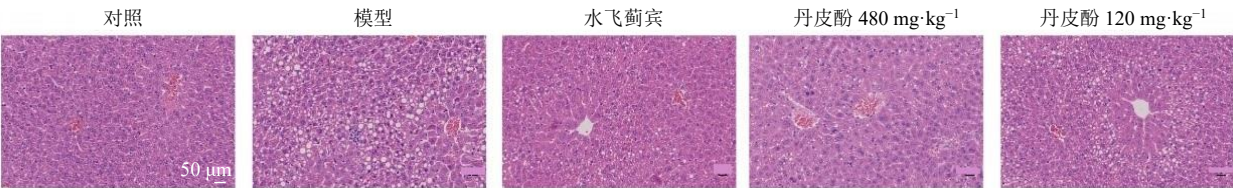
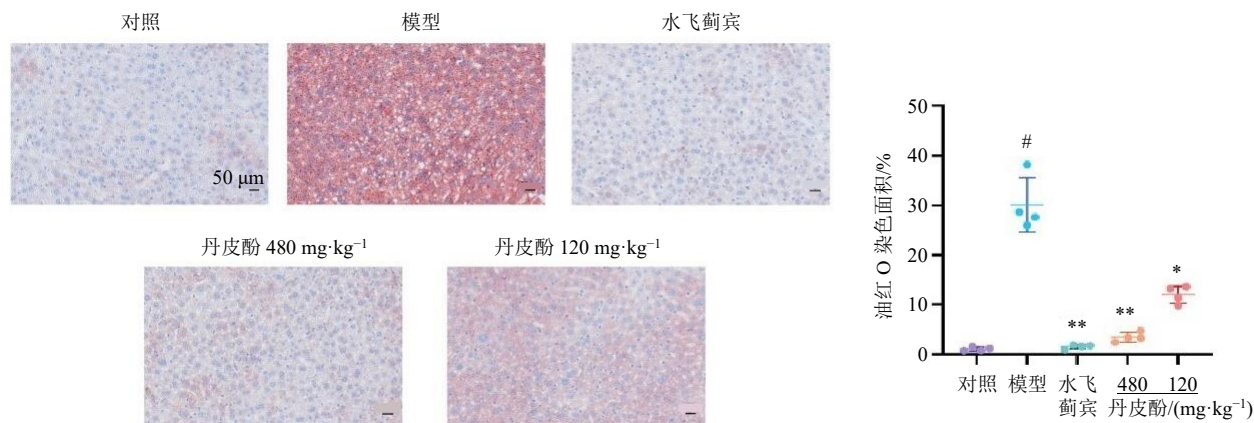


图 6 丹皮酚对 ALD 小鼠肝组织病理变化的影响 (HE, ×200)
Fig. 6 Effect of paeonol on pathological changes in liver tissue of ALD mice (HE, × 200)



与对照组比较: # $P<0.05$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ 。
$P<0.05$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group.

图 7 丹皮酚对 ALD 小鼠肝脏脂质变化的影响 (油红 O, $\times 200$)

Fig. 7 Effect of paeonol on lipid changes in liver tissue of ALD mice (oil red O, $\times 200$)

3.9 丹皮酚对 ALD 小鼠肝功能及血脂的影响

如表 4 所示,与对照组比较,模型组小鼠血清中 TG、TC 水平和 ALT、AST 活性显著升高 ($P<0.01$ 、 0.001),表现出显著的代谢紊乱和肝功能损伤;与模型组比较,丹皮酚各剂量组小鼠血清中 TC 水平和 AST、ALT 活性显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001),丹皮酚高剂量组小鼠血清中 TG 水平显著降低 ($P<0.01$),表明丹皮酚具有肝保护作用。

3.10 丹皮酚对 ALD 小鼠血清中炎症因子水平的影响

如表 5 所示,与对照组比较,模型组小鼠血清中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平显著升高 ($P<0.01$);

与模型组比较,丹皮酚各剂量组 IL-6 和 TNF- α 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01),丹皮酚高剂量组 IL-1 β 水平显著降低 ($P<0.01$),提示丹皮酚可减轻 ALD 模型小鼠的炎症水平。

3.11 丹皮酚通过改善脂质代谢缓解 ALD

采用 Western blotting 检测肝脏中 FABP4、PPAR α 、CPT1A 蛋白表达,结果见图 8 和表 6,与对照组比较,模型组小鼠肝组织 FABP4 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.001$),PPAR α 和 CPT1A 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.001$);与模型组比较,丹皮酚各剂量组小鼠肝组织 FABP4 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.001),CPT1A 蛋白表达水平显著

表 4 丹皮酚对 ALD 小鼠肝功能及血脂的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 4 Effect of paeonol on liver function and blood lipids in ALD mice ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
对照	—	1.10 $\pm$ 0.17	2.12 $\pm$ 0.34	8.29 $\pm$ 1.52	35.81 $\pm$ 2.53
模型	—	3.08 $\pm$ 0.18 ^{##}	6.04 $\pm$ 0.58 ^{###}	32.61 $\pm$ 3.03 ^{###}	83.92 $\pm$ 4.31 ^{###}
水飞蓟宾	36.8	1.89 $\pm$ 0.10 ^{**}	2.94 $\pm$ 0.46 ^{***}	15.35 $\pm$ 2.76 ^{***}	46.04 $\pm$ 3.81 ^{***}
丹皮酚	480	1.96 $\pm$ 0.10 ^{**}	3.29 $\pm$ 0.44 ^{***}	18.09 $\pm$ 2.16 ^{***}	49.91 $\pm$ 3.47 ^{***}
	120	2.82 $\pm$ 0.09	3.98 $\pm$ 0.35 [*]	25.78 $\pm$ 3.34 ^{**}	67.03 $\pm$ 3.78 ^{**}

表 5 丹皮酚对 ALD 小鼠血清中炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 5 Effect of paeonol on levels of inflammatory factors in serum of ALD mice ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	IL-1 β /(ng·L ⁻¹)	TNF- α /(ng·L ⁻¹)
对照	—	21.26 $\pm$ 0.93	14.03 $\pm$ 1.08	18.54 $\pm$ 0.64
模型	—	35.10 $\pm$ 1.47 ^{##}	28.09 $\pm$ 1.78 ^{##}	33.83 $\pm$ 1.44 ^{##}
水飞蓟宾	36.8	23.57 $\pm$ 1.41 ^{**}	18.87 $\pm$ 1.10 ^{**}	19.45 $\pm$ 1.30 ^{**}
丹皮酚	480	24.16 $\pm$ 1.34 ^{**}	20.70 $\pm$ 1.32 ^{**}	22.11 $\pm$ 1.08 ^{**}
	120	31.82 $\pm$ 1.18 [*]	26.94 $\pm$ 1.83	31.97 $\pm$ 1.65 [*]

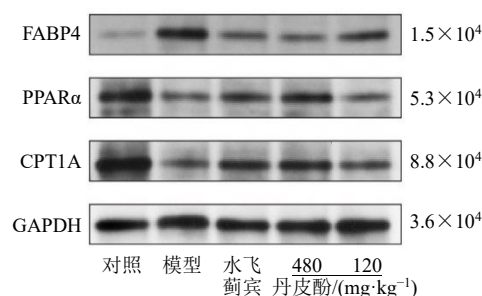


图 8 丹皮酚对 ALD 小鼠肝脏中 FABP4、PPAR α 、CPT1A 蛋白表达的影响

Fig. 8 Effect of paeonol on expressions of FABP4, PPAR α and CPT1A proteins in liver tissue of ALD mice

表 6 丹皮酚对 ALD 小鼠肝脏中 FABP4、PPAR α 、CPT1A 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 6 Effect of paeonol on expressions of FABP4, PPAR α and CPT1A proteins in liver tissue of ALD mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	FABP4/GAPDH	PPAR α /GAPDH	CPT1A/GAPDH
对照	—	0.54 ± 0.03	1.25 ± 0.18	1.63 ± 0.07
模型	—	0.93 ± 0.06 ^{###}	0.65 ± 0.03 ^{###}	0.69 ± 0.03 ^{###}
水飞蓟宾	36.8	0.68 ± 0.07 ^{***}	0.95 ± 0.11 ^{**}	1.15 ± 0.07 ^{**}
丹皮酚	480	0.61 ± 0.04 ^{***}	0.97 ± 0.12 ^{**}	1.12 ± 0.04 ^{**}
	120	0.81 ± 0.07 [*]	0.79 ± 0.08	0.82 ± 0.04 [*]

表 7 丹皮酚对 ALD 小鼠肝脏中 FABP4、PPAR α 、CPT1A mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 7 Effect of paeonol on expressions of FABP4, PPAR α and CPT1A mRNA in liver tissue of ALD mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	mRNA 相对表达量		
		FABP4	PPAR α	CPT1A
对照	—	1.04 ± 0.01	1.03 ± 0.02	1.04 ± 0.04
模型	—	2.02 ± 0.03 ^{##}	0.44 ± 0.01 ^{###}	0.52 ± 0.03 ^{###}
水飞蓟宾	36.8	1.44 ± 0.05 ^{**}	0.69 ± 0.02 ^{**}	0.79 ± 0.07 ^{**}
丹皮酚	480	1.35 ± 0.06 [*]	0.72 ± 0.02 ^{**}	0.84 ± 0.02 ^{**}
	120	1.70 ± 0.12	0.55 ± 0.02 [*]	0.64 ± 0.04 [*]

4 讨论

ALD 包括一系列肝脏疾病,从简单的脂肪变性到更严重的病理性肝脏变化,包括脂肪性肝炎、肝硬化和肝细胞癌^[24]。肝脏在脂质代谢中起着关键作用,ALD 的核心病理特征之一是肝脏脂质代谢紊乱。酒精会影响肝脏脂质代谢,包括脂肪变性、脂肪酸摄取、脂肪酸氧化损伤以及脂肪分解障碍^[25],破坏脂质稳态,进而促进疾病发展。这种代谢紊乱受多层次调控网络影响,涉及激素信号、核受体系统(特别是 PPAR α)、细胞内信号转导通路及关键转录因子的协同作用。研究表明,酒精可抑制 PPAR α 等核受体家族的生物活性,从而破坏其对脂质代谢基因表达的调控作用,最终导致肝脏脂质蓄积和代谢功能障碍^[26-27]。

本研究参考课题组前期方法,使用酒精液体饲料建立 ALD 小鼠模型。与对照组比较,模型组小鼠

升高 ($P < 0.05$ 、 0.01),丹皮酚高剂量组 PPAR α 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。采用 qRT-PCR 检测肝脏中 FABP4、PPAR α 、CPT1A mRNA 表达,结果见表 7,与对照组比较,模型组小鼠肝组织 FABP4 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$),PPAR α 和 CPT1A mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.001$);与模型组比较,丹皮酚高剂量组小鼠肝组织 FABP4 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.05$),丹皮酚各剂量组 PPAR α 和 CPT1A mRNA 表达水平均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。表明丹皮酚可以通过改善脂质代谢改善 ALD。

体质量增长缓慢,肝脏系数升高,出现毛发蓬乱无光泽、活动减少等表现,肝脏的肝窦周围有明显球囊样病变,肝细胞胞质内充满空泡,血脂、肝功能及炎症因子水平明显升高;与模型组比较,给予丹皮酚后以上症状均有明显改善,体质量增长、肝脏系数减小,精神状态得到改善,肝脏炎性细胞浸润减少,肝窦周围的球囊样病变缓解,脂肪液滴的数量减少,并且血脂、肝功能及炎症因子水平明显降低,表明丹皮酚在治疗 ALD 方面有显著价值。

目前研究认为,长期饮酒不仅会损害脂肪组织的功能,导致其代谢、内分泌和免疫功能紊乱^[1],同时,酒精还会直接干扰肝脏的脂质代谢平衡,影响包括从头脂肪生成、脂肪酸氧化以及脂质摄取和输出在内的多种关键代谢途径,从而共同加剧肝脏损伤^[28]。这些研究表明脂质代谢与 ALD 的发生发展关系密切,脂质代谢可能是 ALD 治疗的重要途径。

径之一。为探究丹皮酚治疗 ALD 的潜在机制,本研究通过生物信息学分析,在 PharmMapper 数据库筛选得到药物靶点 88 个。基于 GSE28619 数据集共筛选出 2 622 个差异基因,综合在疾病数据库检索得到的基因以及 WGCNA 分析模块的相关基因,得到 516 个 ALD 相关基因。对药物靶点和 ALD 基因取交集,得到 13 个交集靶点,接着对 13 个交集靶点 GO、KEGG 富集分析。本研究建立了 LASSO 回归模型,结果筛选得到丹皮酚治疗 ALD 的核心靶点(CBS、CTSK、EPHX2、FABP4、GPI、IMPDH2、PCK1)。其中 CBS 是转硫途径中的限速酶,主要催化同型半胱氨酸代谢转化为胱硫醚,并在肝脏中表达^[29]。研究表明,肝脏特异性敲除 CBS 的小鼠会表现出更严重的肝脏脂肪变性、炎症反应和氧化应激,从而加剧肝损伤^[30],提示 CBS 在维持肝脏代谢稳态中具有重要作用。EPHX2 是一种胞质酶,参与多种肝脏代谢过程。在 ALD 小鼠模型中,抑制 EPHX2 表达可显著减轻酒精诱导的肝损伤^[31],表明 EPHX2 可能是 ALD 的潜在治疗靶点。FABP4 是一种小的细胞质脂质伴侣,在维持代谢稳态中发挥重要作用^[32],有研究发现 FABP4 在衰老过程中对肝脏代谢有调控作用,靶向抑制 FABP4 可改善老年小鼠的代谢功能障碍^[33],提示 FABP4 可能与 ALD 的代谢紊乱相关。GPI 是一种关键糖酵解酶,催化葡萄糖-6-磷酸与果糖-6-磷酸的可逆转化。糖酵解是葡萄糖代谢生成三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的重要途径。在 ALD 的多组学研究中,观察到糖酵解相关代谢物水平降低^[34]。此外,酒精在肝脏静脉周围区域的氧化代谢显著降低局部氧张力,从而抑制糖酵解所介导的 ATP 生成^[35],提示 GPI 可能通过影响能量代谢参与在 ALD 的进展。PCK1 是肝脏糖异生酶,研究发现 PCK1 缺陷可通过增强己糖胺-生物合成途径促进肝细胞癌进展^[36]。近期研究还表明, PCK1 缺失会加剧肝脏脂肪变性、纤维化和炎症^[37],提示 PCK1 在 ALD 相关代谢紊乱中可能发挥重要作用。此外,尽管目前尚无直接证据表明 CTSK 和 IMPDH2 与 ALD 的关联,但研究发现 CTSK 和 IMPDH2 在肝细胞癌组织中高表达,促进肝癌细胞的增殖^[38-39],提示 CTSK 和 IMPDH2 可能在肝脏病理过程中发挥一定作用,进而可能参与 ALD 的发生发展。

分子对接结果显示, FABP4 和 PPAR α 与丹皮酚结合性良好。FABP4 作为脂代谢调控的关键蛋

白,主要在脂肪细胞和巨噬细胞中表达,通过调节脂肪酸摄取和转运参与能量代谢过程,同时在炎症反应中发挥重要作用^[40]。临床和动物实验表明, ALD 患者和酒精性肝炎小鼠的肝组织中 FABP4 的 mRNA 和蛋白表达水平显著升高, FABP4 缺失可减轻肝脂质沉积和炎症^[41-42],这可能是 ALD 脂质代谢紊乱的重要机制之一。FABP4 (亦称 A-FABP) 的启动子区域已被证实含有过氧化物酶体增殖物反应元件(peroxisome proliferator responsive element, PPRE),可作为 PPAR 家族成员(包括 PPAR α)的转录靶点^[43-44]。已有研究表明 PPAR α 可能与 A-FABP 启动子区结合,从而调节其转录表达,并通过 FABP4-PPAR α 通路影响肌内脂肪沉积等脂质代谢过程^[45]。此外,近期研究还发现, RXRA-FABP4-PPAR α 信号轴在动脉平滑肌细胞中可调节细胞衰老,延缓动脉粥样硬化进程^[46]。上述研究提示, FABP4 可能是 PPAR α 的重要下游效应分子。因此,本研究聚焦 FABP4/PPAR α 通路,旨在重点探讨其在脂质稳态和肝脏疾病中的潜在机制。在 ALD 中, PPAR 信号通路的失调与脂肪变性、炎症和纤维化密切相关。PPAR α 在肝脏中高度表达, PPAR α 作为脂质代谢的重要调控因子,能够增强脂肪酸氧化并抑制肝脏脂质沉积^[47]。此外, PPAR α 还具有抗炎作用,可有效降低 TNF- α 和 IL-1 β 等炎症介质的产生^[48]。研究表明, PPAR α 缺乏会加剧酒精诱导的肝损伤和脂肪变性,而 PPAR α 激动剂可预防酒精引起的肝损伤^[49]。这些研究的结果强调了 PPAR α 在 ALD 发生和进展中的关键作用。CPT1A 是线粒体外膜上的限速酶,负责将长链脂肪酸转运至线粒体内进行 β -氧化。作为 PPAR α 的下游效应蛋白^[50], CPT1A 的转录表达主要受 PPAR α 调控主导。有研究表明, PPAR α 可直接结合 CPT1A 启动子区的 PPRE,从而激活其转录^[51]。在肾细胞癌模型中, PPAR α 激动剂 WY-14,643 可显著上调 CPT1A 表达并减少脂质沉积,而 PPAR α 拮抗剂可逆转该效应^[52]。此外,酒精摄入降低了小鼠肝脏中 CPT1A 的表达水平,从而抑制脂肪酸的 β -氧化,导致脂质在肝脏中积聚,形成脂肪肝^[53-54]。在 ALD 中, PPAR α 的表达受到抑制,会进一步导致其下游靶基因 CPT1A 的表达下降,加剧脂质代谢障碍^[24]。本研究通过 Western blotting 和 qRT-PCR 检测 FABP4、PPAR α 、CPT1A 的蛋白和 mRNA 表达水平,进一步证实丹皮酚治疗 ALD 与改善脂质代谢相关。结果显示,

ALD 小鼠肝脏组织中 FABP4 蛋白表达水平显著上调, 而 PPAR α 和 CPT1A 的蛋白表达则明显下调。经丹皮酚干预后, 以上蛋白表达水平显著逆转, 提示丹皮酚可能通过调控肝脏脂质代谢平衡, 从而缓解 ALD 小鼠肝脏脂肪变形及炎症反应。本研究结合生物信息学和动物实验验证, 对丹皮酚治疗 ALD 的靶点和信号通路进行了预测和分析, 并通过动物实验证实了丹皮酚对 ALD 小鼠模型的影响, 为后续的研究提供了方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wu X Q, Fan X D, Miyata T, *et al.* Recent advances in understanding of pathogenesis of alcohol-associated liver disease [J]. *Annu Rev Pathol*, 2023, 18: 411-438.
- [2] Hagström H, Thiele M, Roelstraete B, *et al.* Mortality in biopsy-proven alcohol-related liver disease: A population-based nationwide cohort study of 3453 patients [J]. *Gut*, 2021, 70(1): 170-179.
- [3] Devarbhavi H, Asrani S K, Arab J P, *et al.* Global burden of liver disease: 2023 update [J]. *J Hepatol*, 2023, 79(2): 516-537.
- [4] Rehm J. The risks associated with alcohol use and alcoholism [J]. *Alcohol Res Health*, 2011, 34(2): 135-143.
- [5] Åberg F, Gordon Jiang Z, Cortez-Pinto H, *et al.* Alcohol-associated liver disease-Global epidemiology [J]. *Hepatology*, 2024, 80(6): 1307-1322.
- [6] 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.
- [7] Lai W, Zhang J, Sun J, *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.
- [8] Zhao L, Mehmood A, Yuan D D, *et al.* Protective mechanism of edible food plants against alcoholic liver disease with special mention to polyphenolic compounds [J]. *Nutrients*, 2021, 13(5): 1612.
- [9] Zhang L, Li D C, Liu L F. Paeonol: Pharmacological effects and mechanisms of action [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 72: 413-421.
- [10] 吴桂莹, 亓玉玲, 郝宝燕, 等. 丹皮酚衍生物及其药理学研究进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(4): 1001-1006.
- [11] Liang Y N, Dong L S, Yan J J, *et al.* Paeonol attenuates atherosclerosis by regulating vascular smooth muscle cells apoptosis and modulating immune cells infiltration through reducing LT β R expression [J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156196.
- [12] Li R, Yi Q P, Wang J S, *et al.* Paeonol promotes longevity and fitness in *Caenorhabditis elegans* through activating the DAF-16/FOXO and SKN-1/Nrf2 transcription factors [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173: 116368.
- [13] Li X, Shi H M, Zhang D, *et al.* Paeonol alleviates neuropathic pain by modulating microglial M1 and M2 polarization via the RhoA/p38MAPK signaling pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2023, 29(9): 2666-2679.
- [14] 张鲁宁, 刘玲玲, 姜胜男, 等. 丹皮酚通过调节真杆菌属介导的 TGR5/PKA/CREB 信号通路抑制酒精性肝损伤的作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(12): 78-86.
- [15] 孙敏, 刘玉龙, 刘科, 等. 丹皮酚通过调控 JAK2/STAT3 信号通路改善酒精性肝损伤小鼠肝脏炎症与氧化应激损伤 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(6): 1078-1084.
- [16] 梁爽, 唐源, 兰天, 等. 基于网络药理学、分子对接及实验验证探讨雷公藤红素调控铁死亡抑制胃癌的作用机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(7): 2385-2395.
- [17] Wu J D, Wu D Q, Ma K L, *et al.* Paeonol ameliorates murine alcohol liver disease via mycobiota-mediated Dectin-1/IL-1 β signaling pathway [J]. *J Leukoc Biol*, 2020, 108(1): 199-214.
- [18] Hu X T, Ding L Q, Cao S J, *et al.* Pharmacokinetics, tissue distribution and excretion of paeonol and its major metabolites in rats provide a further insight into paeonol effectiveness [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 190.
- [19] Ma X L, Zhao X, Yang Y L, *et al.* Paeonol inhibits NETs-mediated foam cell inflammation through the CitH3/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway in atherosclerosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 151: 114340.
- [20] Cheng S Y, Chen W J, Guo Z Z, *et al.* Paeonol alleviates ulcerative colitis by modulating PPAR- γ and nuclear factor- κ B activation [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 18390.
- [21] Li J, Gu H. Paeonol suppresses lipid formation and promotes lipid degradation in adipocytes [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(1): 78.
- [22] Huang J W, Zhou K L, Li J Y, *et al.* Poncirin ameliorates alcoholic liver injury by regulating lipid metabolism and inflammatory response in a PPAR α dependent manner [J]. *Phytomedicine*, 2025, 140: 156598.
- [23] Liu D, Zhan J T, Wang S Q, *et al.* *Chrysanthemum morifolium* attenuates metabolic and alcohol-associated

- liver disease via gut microbiota and PPAR α / γ activation [J]. *Phytomedicine*, 2024, 130: 155774.
- [24] Mackowiak B, Fu Y J, Maccioni L, *et al.* Alcohol-associated liver disease [J]. *J Clin Invest*, 2024, 134(3): e176345.
- [25] Jeon S, Carr R. Alcohol effects on hepatic lipid metabolism [J]. *J Lipid Res*, 2020, 61(4): 470-479.
- [26] Zhang T, Bao L J, Zhao Q, *et al.* Metabolomics reveals gut microbiota contribute to PPAR α deficiency-induced alcoholic liver injury [J]. *J Proteome Res*, 2023, 22(7): 2327-2338.
- [27] Xu L, Zhang X G, Xin Y, *et al.* Depdc5 deficiency exacerbates alcohol-induced hepatic steatosis via suppression of PPAR α pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(7): 710.
- [28] Kema V H, Mojerla N R, Khan I, *et al.* Effect of alcohol on adipose tissue: A review on ethanol mediated adipose tissue injury [J]. *Adipocyte*, 2015, 4(4): 225-231.
- [29] Zuhra K, Augsburg F, Majtan T, *et al.* Cystathionine- β -synthase: Molecular regulation and pharmacological inhibition [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(5): 697.
- [30] Lambooy S, Heida A, Joschko C, *et al.* Selective hepatic *Cbs* knockout aggravates liver damage, endothelial dysfunction and ROS stress in mice fed a western diet [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8): 7019.
- [31] Mello A, Hsu M F, Koike S, *et al.* Soluble epoxide hydrolase hepatic deficiency ameliorates alcohol-associated liver disease [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 11(3): 815-830.
- [32] 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.
- [33] Simon L, Molina P E. Cellular bioenergetics: Experimental evidence for alcohol-induced adaptations [J]. *Function*, 2022, 3(5): zqac039.
- [34] Xiang J, Chen C, Liu R, *et al.* Gluconeogenic enzyme PCK1 deficiency promotes CHK2 O-GlcNAcylation and hepatocellular carcinoma growth upon glucose deprivation [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(8): e144703.
- [35] Ye Q, Liu Y, Zhang G J, *et al.* Deficiency of gluconeogenic enzyme PCK1 promotes metabolic-associated fatty liver disease through PI3K/AKT/PDGF axis activation in male mice [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 1402.
- [36] Zhang C M, Liu Z Y, Wang X T, *et al.* Cathepsin K promotes the proliferation of hepatocellular carcinoma cells through induction of SIAH1 ubiquitination and degradation [J]. *iScience*, 2023, 26(6): 106852.
- [37] He Y, Zheng Z S, Xu Y, *et al.* Over-expression of IMPDH2 is associated with tumor progression and poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(8): 1604-1614.
- [38] Pelton P D, Zhou L, Demarest K T, *et al.* PPARgamma activation induces the expression of the adipocyte fatty acid binding protein gene in human monocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 261(2): 456-458.
- [39] Tontonoz P, Graves R A, Budavari A I, *et al.* Adipocyte-specific transcription factor ARF6 is a heterodimeric complex of two nuclear hormone receptors, PPAR gamma and RXR alpha [J]. *Nucleic Acids Res*, 1994, 22(25): 5628-5634.
- [40] Hotamisligil G S, Bernlohr D A. Metabolic functions of FABPs: Mechanisms and therapeutic implications [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11(10): 592-605.
- [41] Attal N, Sullivan M T, Girardi C A, *et al.* Fatty acid binding protein-4 promotes alcohol-dependent hepatosteatosis and hepatocellular carcinoma progression [J]. *Transl Oncol*, 2021, 14(1): 100975.
- [42] Xing H, Wu Z, Jiang K Q, *et al.* FABP4 deficiency ameliorates alcoholic steatohepatitis in mice via inhibition of p53 signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 21135.
- [43] Chen J, You R G, Lv Y, *et al.* Conjugated linoleic acid regulates adipocyte fatty acid binding protein expression via peroxisome proliferator-activated receptor α signaling pathway and increases intramuscular fat content [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 1029864.
- [44] Zhang W W, Wang L H, Wang Y J, *et al.* Inhibition of the RXRA-PPAR α -FABP4 signaling pathway alleviates vascular cellular aging by an SGLT2 inhibitor in an atherosclerotic mice model [J]. *Sci China Life Sci*, 2024, 67(12): 2678-2691.
- [45] Li H L, Wu X P, Xu A M, *et al.* A-FABP in metabolic diseases and the therapeutic implications: An update [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9386.
- [46] Lv J, Hu Y M, Li L L, *et al.* Targeting FABP4 in elderly mice rejuvenates liver metabolism and ameliorates aging-associated metabolic disorders [J]. *Metabolism*, 2023, 142: 155528.
- [47] Meng F G, Zhang X N, Liu S X, *et al.* Roles of peroxisome proliferator-activated receptor α in the pathogenesis of ethanol-induced liver disease [J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 327: 109176.
- [48] Kong L J, Chen J, Ji X L, *et al.* Alcoholic fatty liver disease

- inhibited the co-expression of Fmo5 and PPAR α to activate the NF- κ B signaling pathway, thereby reducing liver injury via inducing gut microbiota disturbance [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 18.
- [49] Gong L J, Wei F, Gonzalez F J, *et al.* Hepatic fibrosis: Targeting peroxisome proliferator-activated receptor alpha from mechanism to medicines [J]. *Hepatology*, 2023, 78(5): 1625-1653.
- [50] Song S L, Attia R R, Connaughton S, *et al.* Peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPARalpha) and PPAR gamma coactivator (PGC-1alpha) induce carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT-1A) via independent gene elements [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 325(1/2): 54-63.
- [51] Wang R, Zhao J, Jin J C, *et al.* WY-14643 attenuates lipid deposition via activation of the PPAR α /CPT1A axis by targeting Gly335 to inhibit cell proliferation and migration in ccRCC [J]. *Lipids Health Dis*, 2022, 21(1): 121.
- [52] Xiao Q M, Yu X X, Yu X W, *et al.* An integrated network pharmacology and cell metabolomics approach to reveal the role of rhein, a novel PPAR α agonist, against renal fibrosis by activating the PPAR α -CPT1A axis [J]. *Phytomedicine*, 2022, 102: 154147.
- [53] Clugston R D, Jiang H F, Lee M X, *et al.* Altered hepatic lipid metabolism in C57BL/6 mice fed alcohol: A targeted lipidomic and gene expression study [J]. *J Lipid Res*, 2011, 52(11): 2021-2031.
- [54] Li Z H, Li X H, Jiang H, *et al.* Alcohol promotes CPT1A-induced lipid metabolism disorder to sentinel-regulate acute pancreatitis [J]. *Eur J Med Res*, 2025, 30(1): 35.

[责任编辑 李亚楠]