美他多辛通过MAPK增强线粒体功能降低酒精性肝病脂质蓄积

王咏枝, 李　芸, 郭伊菲, 周园奇, 李洪林, 张　健*

(华东理工大学药学院, 上海市新药设计重点实验室, 上海 200237)

摘要: 为探究美他多辛在酒精性肝病中抑制肝脏细胞脂肪变性的作用机制, 本研究采用美他多辛灌胃治疗高脂高乙醇饮食诱导的酒精性肝病小鼠, 通过肝脏组织的转录组测序 (RNA sequencing, RNA-Seq) 分析药物作用的通路; 利用乙醇损伤诱导的HepG2细胞线粒体损伤模型探究美他多辛对线粒体功能的影响, 从而探究美他多辛改善脂代谢的作用机制。本研究动物实验遵循合肥工业大学科学研究伦理委员会的规定并通过动物实验伦理审查 (批号: HUFT20210615002)。实验结果表明, 酒精性肝病饮食喂养的小鼠出现了肝脏脂质蓄积。体内实验发现, 美他多辛给药后的小鼠血脂水平与模型组相比下降 ($P < 0.05$), 肝功能损伤减少 ($P < 0.05$), 肝细胞炎性浸润和脂肪变性显著性减少 ($P < 0.01$)。体外实验发现, 美他多辛显著逆转了乙醇处理引起的肝细胞线粒体呼吸功能损伤, 并增加了线粒体膜电位。通过肝脏组织的RNA-Seq分析发现丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路明显富集。通过对肝组织的MAPK磷酸化水平的测定, 发现美他多辛处理可显著降低p38 MAPK的磷酸化水平 ($P < 0.01$)。而p38-MAPK抑制剂和美他多辛共处理后, 美他多辛的作用抵消。而p38-MAPK激活剂和美他多辛共处理的情况下, 可逆转美他多辛对p38-MAPK磷酸化的抑制作用。美他多辛促进p38 MAPK磷酸化并增强线粒体呼吸功能, 减少肝细胞的脂质积累, 减少肝脏炎症, 从而改善酒精性肝病。

关键词: 美他多辛; 线粒体损伤; 脂质集聚; 酒精液体饲料饮食; 酒精性肝病

中图分类号: R966　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0513-4870(2026)04-1246-12

Metadoxine enhances mitochondrial function and relieves lipid accumulation in alcoholic liver disease by phosphorylation of MAPK

WANG Yong-zhi, LI Yun, GUO Yi-fei, ZHOU Yuan-qi, LI Hong-lin, ZHANG Jian*

(*Shanghai Key Laboratory of New Drug Design, School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China*)

Abstract: The aim of this study is to elucidate the mechanism of metadoxine through which it attenuates alcoholic liver disease-associated hepatic steatosis. In this study, the effect of metadoxine on alcoholic liver disease was evaluated in mouse model of alcoholic liver disease induced by high alcohol and high fat diets. In addition, RNA sequencing (RNA-Seq) of the liver tissues was applied to determine the dominant signaling pathways in response to metadoxine treatment. The mechanism of metadoxine on metabolic was investigated by mitochondrial function in HepG2 cells. The animal experiments in this study were conducted in accordance with the guidelines of the Ethics Committee for Scientific Research of Hefei University of Technology and were approved by the Animal Experiment Ethics Committee (approval No.: HUFT20210615002). When mice were fed a diet designed to induce alcoholic liver disease, hepatic lipid accumulation resulted. In this study, the level of serum biomarkers of liver injury, such as alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), was substantially decreased in mice treated with metadoxine compared to the model group ($P < 0.05$). Meanwhile, the inflammatory infiltration

收稿日期: 2025-10-15;　修回日期: 2025-12-18.
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82370068).
*通讯作者 E-mail: zhangjian_tina@163.com
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1222

and steatosis in liver were alleviated by the administration of metadoxine compared to the model group ($P < 0.01$). *In vitro*, metadoxine significantly reversed ethanol overload-induced impairment of mitochondrial respiratory function and increased mitochondrial membrane potential in hepatocytes. Transcriptomic sequencing (RNA-Seq) analysis of liver tissue identified significant enrichment of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway. Measurement of MAPK phosphorylation levels in liver tissue showed that metadoxine treatment significantly reduced MAPK phosphorylation ($P < 0.01$). Furthermore, the protective effects of metadoxine were abolished upon co-treatment with a p38-MAPK inhibitor. Conversely, co-treatment with a p38-MAPK activator reversed the inhibitory effect of metadoxine on p38-MAPK phosphorylation. This study investigated the mechanism of metadoxine in alcoholic liver disease and found that metadoxine enhanced mitochondrial function by the phosphorylation of MAPK and reduced the lipid accumulation and inflammation in alcoholic liver disease.

Key words: metadoxine; mitochondrial damage; lipid accumulation; Lieber-DeCarli liquid diet; alcoholic steatosis

酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 是全球范围内导致肝硬化和肝相关死亡的主要原因之一[1]。因持续酒精摄入导致肝癌的发生甚至死亡的比例已增加至饮酒者30%～40%。酒精性肝病病因复杂, 基因遗传、酒精摄入和排出失衡、炎症和氧化应激以及衰老等均是引起酒精性肝病迅速进展的重要原因, 其病理进程复杂, 通常始于单纯性肝脂肪变性, 并可进一步发展为酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化, 最终导致肝硬化甚至肝细胞癌[2,3]。酒精持续摄入引起的内质网应激和线粒体功能紊乱是导致肝细胞损伤的直接原因, 最终导致肝硬化[4]。线粒体是脂质代谢的重要场所, 线粒体在ATP生成、代谢物分解、细胞命运等方面起着关键作用, 线粒体功能的改变被认为是酒精性肝病进展过程中的关键事件[5]。因此, 线粒体功能异常和脂肪变性是酒精性肝病进展的重要病理基础。

酒精性肝病发病机制复杂, 而目前酒精性肝病的治疗手段有限[6]。临床研究发现, 高脂Lieber-DeCarli液体饲料维持酒精摄入的模型中, 高脂饮食与酒精滥用之间的协同效应显著加剧了肝脏的脂质堆积与氧化应激, 从而共同促进肝损伤的严重程度与进展。美他多辛作为一种自2017年上市的护肝药, 广泛应用于酒精性肝病患者及酒精中毒患者的症状缓解。美他多辛是一种抗氧化剂, 能够增强乙醛脱氢酶活性, 降低血清中乙醇浓度[7]。此外, 美他多辛通过减少肝星状细胞活化减缓肝脏纤维化进程[8]。而与此同时, 在酒精性肝病的发病机制中, 线粒体损伤是导致肝脏脂肪变性的重要原因, 关于美他多辛如何通过影响线粒体功能改善肝脂肪变性的作用机制仍不清晰[9]。美他多辛在酒精性肝病中抑制肝脏细胞脂肪变性的作用机制仍待进一步研究。

小鼠在高酒精饮食造模的状态下, 其肝脏损伤持续增加, 并伴有炎症的发生[10], 与高酒精饮食人群的肝脏特征相吻合, 故常用于模拟人类酒精性肝病的模型[11]。本研究在确认美他多辛的药效基础之上, 进一步采用转录组测序 (RNA sequencing, RNA-Seq) 技术深入探索其作用机制。通过对转录组数据的分析, 本研究焦点集中于美他多辛对肝脏脂质代谢, 尤其是线粒体相关基因表达的调控。此外, 本研究通过细胞实验直接评估了美他多辛对线粒体功能的关键指标, 旨在阐明其通过改善线粒体功能以减轻肝脏脂质堆积的分子机制, 为揭示酒精性肝病的致病机制及开发新型治疗药物提供了新的实验依据和思路。

材料与方法

实验动物 7～8周龄的C57BL/6J雄性小鼠购自江苏集萃药康生物科技有限公司, 合格证编号NO.202121348。小鼠体重24 ± 2 g。小鼠在恒温无病原体、12 h/12 h光暗循环的无特定病原体动物的实验动物房中进行饲养, 小鼠可自由获取食物和饮用水。小鼠实验经合肥工业大学伦理委员会审批 (编号为: HFUT 20210615002), 并按照该实验动物相关规范饲养小鼠。

动物分组与模型建立 小鼠在恒温无病原体、12 h/12 h光暗循环的鼠房中适应性饲养1周后, 进行5天的适应性喂养训练, 并根据喂养后的体重结果随机分成3组, 分别为对照组、模型组、给药组; 其中模型组和给药组每天喂养含5%酒精的高脂液体饲料, 型号为Lieber (美国戴茨公司), 每天对小鼠进行体重监测, 并灌胃美他多辛 (metadoxine, 300 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$), 或灌胃等体积无菌水; 其中美他多辛购自于北京索莱宝生物科技有限公司, 货号为YZ-100784。在第11天时, 一次性大剂量给小鼠灌胃高纯度乙醇 (5 $g \cdot kg^{-1}$), 该方法参照酒精性肝病的造模方式, 在较短的时间内模拟酒精性肝病的病理特征[12]。9 h后, 小鼠眼球取血, 处

死, 并取出小鼠肝脏。血液取出后静置15 min, 随后立即在4 ℃、3 000 ×*g*条件下离心15 min, 取上层血清, 分装后放于−80 ℃冰箱储存; 肝脏纵切, 肝大叶固定于4%中性甲醛溶液, 用于组织学病理检查, 另一半液氮速冻, 用于分子生物学实验。

细胞模型的建立 人肝癌细胞系HepG2细胞系购自于中乔新舟生物科技有限公司。通过乙醇干预建立酒精性脂肪肝的体外模型。具体步骤如下: 将HepG2细胞接种于6孔板中, 每孔接种密度为5×10^5个细胞, 使用含10%胎牛血清的MEM培养基进行培养。接种12 h后, 在显微镜下观察细胞状态, 确认细胞形态完整、贴壁良好且生长状态适宜后, 加入终浓度为100 mmol·L^{-1}乙醇 (ethanol, EtOH) 溶液, 继续处理48 h, 以模拟酒精性肝细胞损伤的病理环境。该模型可用于后续酒精性脂肪肝相关机制及干预策略的研究。

血清指标检测 血脂水平和肝功能指标由生化分析仪 (日立3100, 日本株式会社日立制作所) 检测进行, 测定了小鼠血清中丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 和高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 含量等指标。此处血清指标检测试剂均购自于美康生物科技有限公司

线粒体呼吸功能检测实验 采用Agilent公司的Seahorse分析仪对细胞的氧气消耗速率 (oxygen consumption rate, OCR) 进行测定。使用Seahorse仪器专用细胞培养板, 每孔接种1×10^4个HepG2细胞, 给药处理的同时给予乙醇 (100 mmol·L^{-1}) 造模模拟细胞受酒精损伤的线粒体损伤模型。在加药处理细胞前预热Seahorse仪器, 上机前一天, 探针板在37 ℃无CO_2培养箱水化过夜。上机当天, 取出细胞培养板, 吸去培养基, 加入200 μL预热的检测液, 置于37 ℃无CO_2培养箱1 h。期间在水化的探针板中根据说明书加入已经配制好的oligomycin、线粒体解偶连剂: 碳酰氰-4-三氟甲氧基苯腙 [carbonyl cyanide 4- (trifluoromethoxy) phenylhydrazone, FCCP]、鱼藤酮和抗霉A (rotenone/antimycin A, ROT/AA), 使药物最终浓度分别为1、1.5和0.5 μmol·L^{-1}, 最后上机进行检测。美他多辛剂量为10 μmol·L^{-1}, p38 MAPK抑制剂skepinone-L (HY-15300, 上海皓元生物医药科技有限公司) 剂量为5 μmol·L^{-1}。

苏木精−伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色 小鼠肝脏组织经过多聚甲醛固定48 h; 修片处理后, 不同浓度梯度乙醇溶液进行脱水; 脱水完成后, 组织切块浸蜡、包埋成为组织蜡块; 使用切片机切片, 形成厚度约为5 μm的石蜡切片; 石蜡切片脱蜡: 分别将切片浸入二甲苯10 min, 新的二甲苯10 min, 然后浸入100%乙醇10 min, 再梯度浸入95%乙醇5 min, 85%乙醇5 min, 70%乙醇5 min进行水化。通过伊红−苏木素染色和盐酸乙醇分化操作, 最后在梯度乙醇和二甲苯中脱水至透明, 并在通风橱中进行中性树胶封片, 晾干。倒置光学显微镜下观察、拍片, 并对HE染色后的病理组织进行分析, 根据细胞气泡样变化和脂肪样变参照NAS评分中的标准进行[13]。

酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 本实验中的ELISA实验操作严格遵守制造商说明书中的实验方案。将获取的造模后小鼠血清样本加入包被有肿瘤坏死因子*α* (tumor necrosis factor *α*, TNF-*α*) 和白细胞介素6 (interleukin-6, IL-6) 的孔板中, 根据实验说明书中的操作步骤, 待检测样本中的抗原与ELISA板上的抗体结合后, 洗去未结合的抗原, 再依次加入生物素化抗体工作液和酶结合物工作液继续孵育, 形成免疫复合物。随后加入显色底物TMB, 使其在辣根过氧化物酶的催化下呈现蓝色, 接着加入终止液, 并立即在450 nm处测量各组的吸光度值, 并计算各样品对应的浓度。

RNA-Seq 小鼠肝脏组织经液氮速冻后存放于−80 ℃冰箱中, RNA-Seq由联川生物科技有限公司完成, 使用二代高通量真核有参转录组分析。通过数据分析过滤原始数据中的不合规序列, 对有效数据分析样本中的基因表达水平。对基因的表达量进行分析统计, 用于评估各监测样本中的组内及组间基因表达的差异性。使用FPKM值作为基因表达量的衡量指标, 统计不同样本中基因表达的差异。以差异倍数 > 1.5为变化阈值、q值 < 0.05为差异基因的筛选标准, 对差异基因进行富集分析。实验数据经由联川生物科技有限公司分析, 并提供分析报告。

实时荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative real-time PCR, qPCR) 首先使用RNA提取试剂 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司, B511314-0100] 从小鼠肝组织中提取总RNA, 并通过微量分光光度计 (Nano Drop公司) 检测RNA纯度与浓度。随后, 使用逆转录试剂盒 (南京诺唯赞生物科技股份有限公司, R223-01) 将1 μg总RNA逆转录为cDNA, 反应条件为37 ℃ 15 min, 85 ℃ 5 s。qPCR反应体系以cDNA为模板, 加入特异性引物及qPCR预混液 (南京诺唯赞生物科技股份有限公司, Q331-02), 并采用Taq酶试剂盒 (南京耶森生

物科技有限公司, 10102ES03) 进行扩增。反应在实时荧光定量PCR系统 (美国BioRad CFX Real-Time System) 上进行, 程序设置为: 95 ℃预变性30 s; 95 ℃变性10 s, 60 ℃退火/延伸30 s, 共40个循环。每个样本设3个技术重复, 以GAPDH作为内参基因, 采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算mRNA相对表达水平。引物序列如表1。

Table 1 A list of qPCR primer sequences

Primer	Sequence (5'-3')
Aldh1b1-F	CTGAAGGCTTCAAGGGCTTC
Aldh1b1-R	TCCTTGTCAGCCTTCTCCAC
Cyp2e1-F	GCTTCTTCTTGTGGCGAATG
Cyp2e1-R	TCCAATGAGCCTCAACCTCA
Srebpf1-F	GCAGCCTCAGCTTAAGGAGA
Srebpf1-R	TGGTCGGCTTCTGTAGCAT
Nfkb1(*p105*)-F	CACTGATGACCAGTACAGGAG
Nfkb1(*p105*)-R	GCAGCTTCTGGCACATACTGT

Western blot检测相关蛋白表达 为了检测MAPK通路相关蛋白的变化, 采用6孔板接种HepG2细胞, 每孔接种5×10^5个细胞, 给药处理的同时给予乙醇 (100 mmol·L^{-1}) 造模模拟细胞受酒精损伤的线粒体损伤模型。美他多辛 (10 μmol·L^{-1}) 处理细胞24 h, 对照组给予相同体积的细胞培养基。此外, 为检测美他多辛是否通过p38 MAPK途径发挥作用, 采用6孔板接种HepG2和AML12细胞, 每孔接种5×10^5个细胞, 并使用p38 MAPK抑制剂skepinone-L (5 μmol·L^{-1}) 处理细胞, 分别设置control组、model组、skepinone-L组, skepinone-L同时给予美他多辛 (10 μmol·L^{-1}) 处理组。给药处理的同时给予乙醇 (100 mmol·L^{-1}) 造模模拟细胞受酒精损伤的线粒体损伤模型。此外, 也设置了使用p38 MAPK激动剂anisomycin (200 nmol·L^{-1}) 处理细胞, 分别设置control组、model组、anisomycin组, anisomycin同时给予美他多辛 (10 μmol·L^{-1}) 处理组。给药处理的同时给予乙醇 (100 mmol·L^{-1}) 造模模拟细胞受酒精损伤的线粒体损伤模型。24 h后, 取出美他多辛干预处理好的细胞, PBS清洗3次后加入细胞裂解液 (含1% cocktail和1 mmol·L^{-1} PMSF) 裂解细胞, 获取该细胞的总蛋白。采用BCA法蛋白定量, 加入5×loading缓冲液混匀, 煮沸变性10 min。SDS-PAGE胶进行分离, 转膜、5%脱脂牛奶封闭后4 ℃过夜孵育一抗 (稀释倍数1∶2 000)。1×TBST清洗3次, 每次10 min, 而后加入二抗 (1∶10 000) 室温孵育1 h, 1×TBST清洗3次后使用ECL进行显影。使用GAPDH为内参基因, Image J软件分析蛋白条带灰度值。

Mito-tracker deep red染色 Mito-tracker deep red (赛默飞科技有限公司, M22426) 检测细胞线粒体形态。在48孔板中接种HepG2细胞 (每孔2×10^4个), 给药处理的同时给予乙醇 (100 mmol·L^{-1}) 造模。美他多辛 (10 μmol·L^{-1}) 处理细胞24 h, 对照组给予相同体积的细胞培养基。24 h后, 使用无血清培养基配制Mito-tracker deep red染色工作液, 其浓度为100 nmol·L^{-1}, 全程避光, 加入到48孔板中, 细胞培养箱中培养15 min。取出后使用PBS缓冲液清洗3次, 加入细胞固定液固定10 min, 使用含DAPI的防荧光淬灭剂进行封片。随后荧光显微镜下观察线粒体形态, Image J软件分析细胞荧光强度。

线粒体膜电位 (JC-1染色) 采用JC-1荧光探针法检测线粒体膜电位变化。实验基于JC-1在线粒体内的电位依赖性聚集特性: 膜电位正常时形成红色荧光J-聚集体 (发射峰590 nm), 膜电位下降时解聚为绿色荧光单体 (发射峰530 nm)。具体步骤如下: 将HepG2细胞接种于96孔黑底板中, 每孔接种1×10^4个细胞, 给药处理的同时给予乙醇 (100 mmol·L^{-1}) 造模。美他多辛 (10 μmol·L^{-1}) 处理细胞24 h, 对照组给予相同体积的细胞培养基。移除培养基, 加入10 μg·mL^{-1} JC-1工作液, 细胞培养箱中避光孵育15 min。PBS洗涤3次后加入新鲜培养基。荧光显微镜下检测488和550 nm通道下的细胞荧光。数据分析时, 将对照组红绿荧光强度进行比值, 计算各处理组的相对变化百分比, 采用单因素方差分析进行统计比较。

数据分析及处理 本文中所有数据用平均值±标准误 (mean ± SEM) 表示, 使用SPSS 20.0软件进行组间的单因素方差分析, 采用最小差异数法检验进行多重比较。$P < 0.05$代表差异有统计学意义, 通过Prism GraphPad 10.1.2作图展示数据。

结果

1 美他多辛改善酒精性饮食引起的小鼠生理指标的改变

小鼠酒精性肝病模型的构建流程如图1A所示。与模型组比较, 美他多辛干预显著缓解了因造模引起的小鼠体重下降 (图1B)。同时, 美他多辛治疗后, 小鼠肝脏形态趋于正常, 肝脏重量也有所恢复 (图1C、D)。AST、ALT和ALP是肝脏中关键的代谢酶, 当肝细胞受损时, 这些酶被大量释放入血, 因此其活性水平是评价肝脏炎症和损伤程度的重要指标。与对照组相比, 模型组小鼠血清中ALT、AST和ALP水平均显著升高; 而与模型组相比, 美他多辛给药组ALT水平未明显降低, 而AST和ALP的水平均显著降低, 表明美他多辛有助于促进酒精性肝病小鼠肝功能的恢复 (图1E、F、I)。通过肝脏组织HE染色进行病理学分析发

现, 与模型组相比, 美他多辛治疗组中央静脉周围肝索结构更为清晰, 肝细胞排列更加整齐, 肝细胞气球样变和炎症浸润明显减轻。根据气球样变和脂肪变性评分标准对HE染色结果进行统计, 结果显示美他多辛治疗后小鼠肝脏气球样变水平显著降低 (图1G、H)。在酒精性肝病中, TNF-α和IL-6的表达水平通常升高。在本研究中, 与模型组相比, 美他多辛干预组小鼠的TNF-α和IL-6水平均显著下降 (图1J、K)。这表明美他多辛能显著减轻乙醇诱导的肝脏炎症反应。通过生化分析仪检测小鼠血脂水平发现, 与模型组相比, 美他多辛治疗后血清中TC、TG和LDL-C水平均显著降低, 降幅分别为10.14%、25.09%和29.23%, 而HDL-C水平则显著升高, 升幅为29.55% (图1L～O)。以上结果提示, 美他多辛能够改善肝脏脂质代谢水平。

2 美他多辛通过增强脂质代谢降低酒精引起的肝损伤

RNA-Seq主成分分析结果显示, 美他多辛给药组与模型组以及对照组的小鼠的肝脏样本在基因表达上呈现明显分离, 表明美他多辛对小鼠整体基因表达产生了显著影响 (图2A)。与对照组相比, 模型组共有5 061个基因上调和2 423个基因下调, 而美他多辛给药组共有5 361个基因上调和1 965个基因下调。与模型组相比, 美他多辛给药组共有649个基因上调和402个基因下调 (图2B)。基于此, 通过火山图进行展示美他多辛给药组和模型组的差异表达基因, 如图所示, 其中红色为上调基因, 而蓝色为下调基因, 值得注意的是胆固醇合成的相关基因如*Srebf1*显著性下调 (图2C)。通过对这些差异基因进行GO细胞组分富集分析, 发

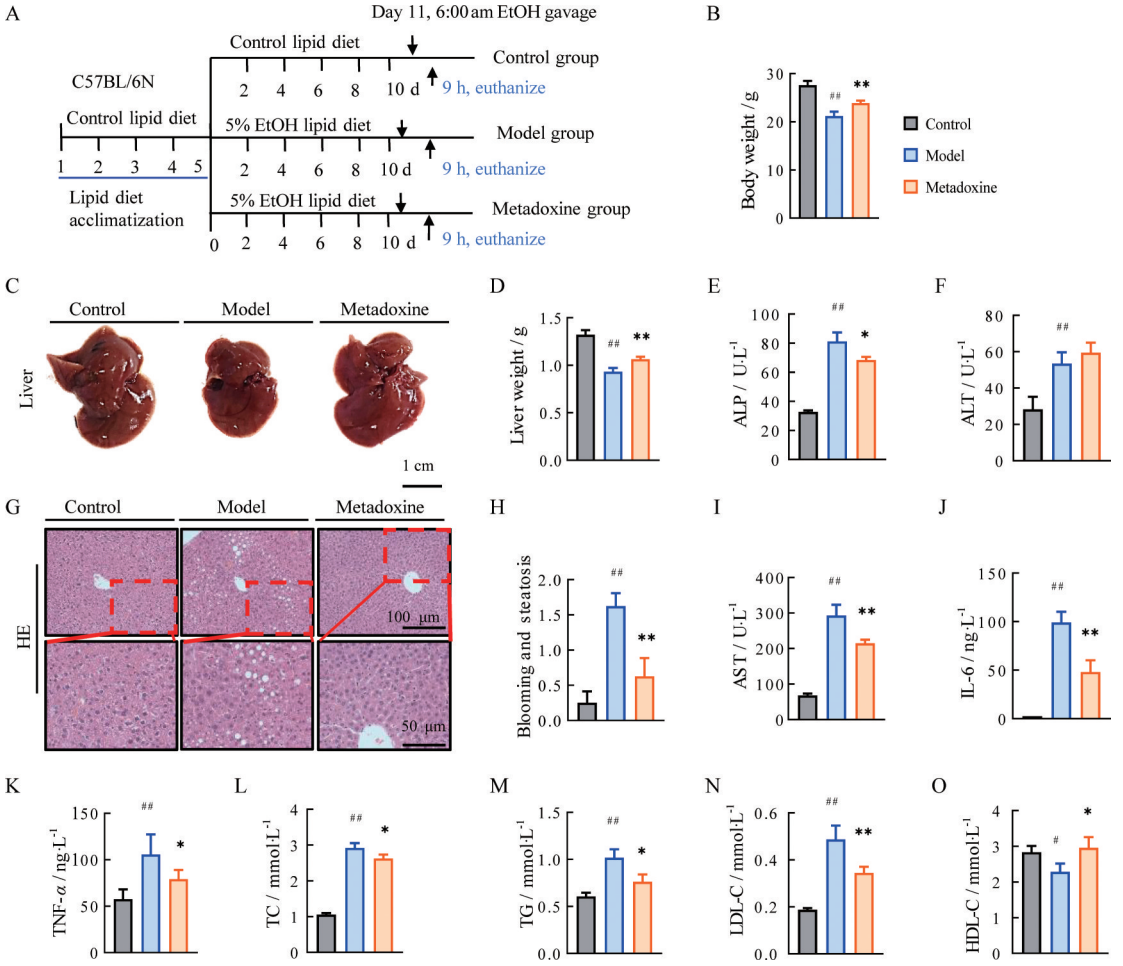


Figure 1 Metadoxine ameliorated hepatic steatosis induced by an alcoholic diet. A: Schematic diagram of alcoholic liver disease modeling and experimental animal grouping; B: Body weight; C: Liver morphology; D: Liver weight; E: Serum alkaline phosphatase (ALP) level; F: Serum alanine aminotransferase (ALT) level; G: Representative images of hematoxylin and eosin (HE) staining; H: Liver pathology score; I: Serum aspartate aminotransferase (AST) level; J: Interleukin-6 (IL-6) level; K: Tumor necrosis factor alpha (TNF-α) level; L: Serum total cholesterol (TC) level; M: Serum triglyceride (TG) level; N: Serum low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) level; O: Serum high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) level. n = 8, mean ± SEM. $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* the control group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* the model group

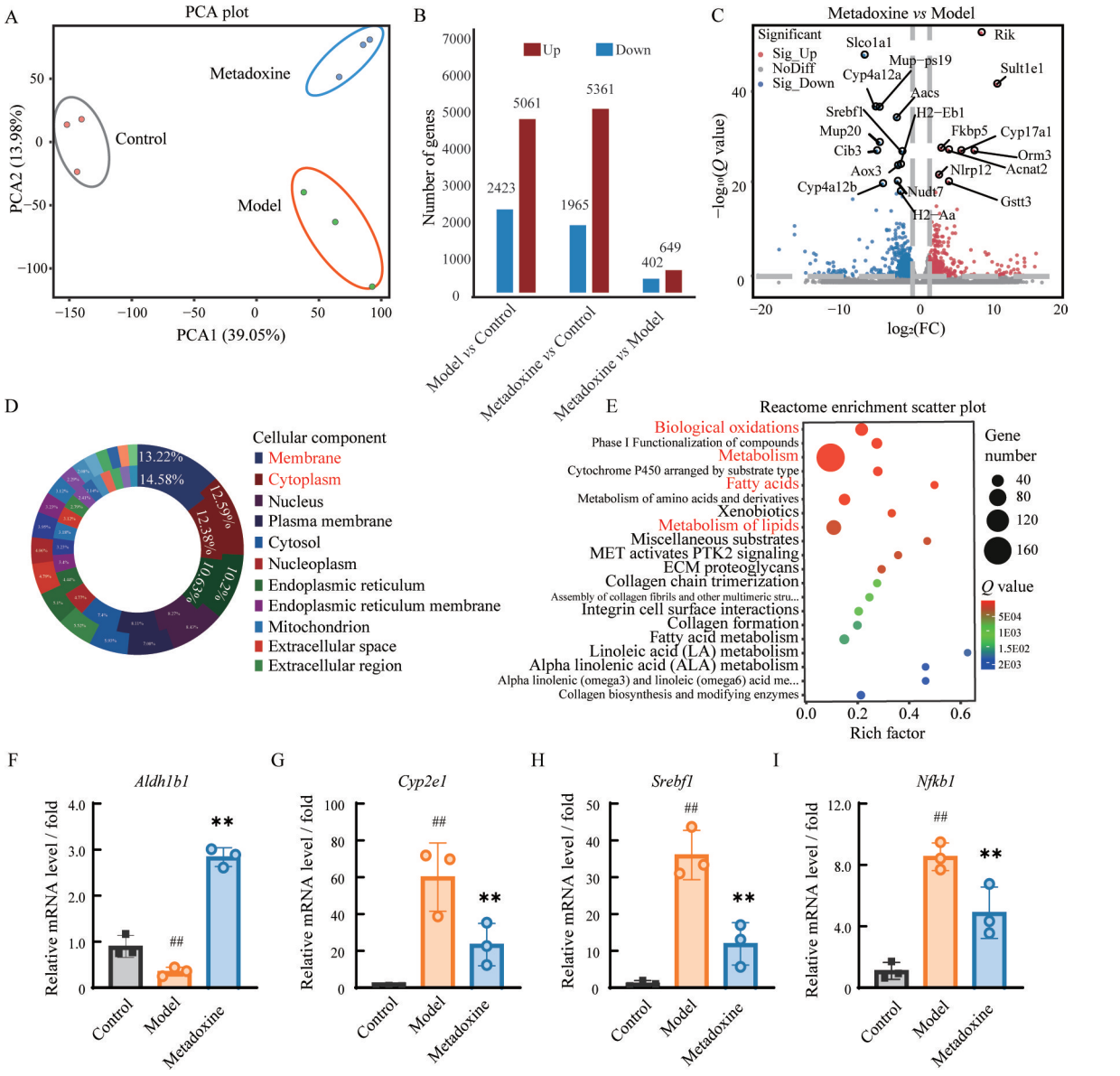


Figure 2 RNA-Seq revealed the differences in lipid metabolism after the administration of metadoxine. A: Principal component analysis plot of differentially expressed genes in the liver after metadoxine administration; B: Bar chart of differentially expressed genes in the liver from Figure 1; C: Volcano plot of differentially expressed genes of model and the metadoxine administration group; D: Pie chart distribution of GO enrichment component analysis; E: GO enrichment pathway analysis diagram; F−I: Relative expression of mRNA level of aldehyde dehydrogenase 1 family, member B1 (*Aldh1b1*, F), cytochrome P450 family 2 subfamily E member 1 (*Cyp2e1*, G), sterol regulatory element-binding transcription factor 1 (*Srebf1*, H), and nuclear factor kappa B subunit 1 (*Nfkb1*, I). n = 3, mean ± SEM. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* the control group; $^{**}P < 0.01$ *vs* the model group

现它们显著富集于细胞膜 (13.22%) 和细胞质 (12.59%) 等结构 (图 2D)。该结果提示美他多辛的作用可能广泛影响了包括膜受体信号转导、胞内代谢反应及物质运输在内的多个关键生物学过程。为进一步探究其生物学功能, 本研究通过 Reactome 通路数据库差异基因进行了富集分析。结果显示, 生物氧化、脂肪酸代谢以及脂质代谢等相关通路中的基因也显著富集。值得注意的是, 目前富集到的基因数量前三的通路均与代谢过程相关, 这一发现从分子层面解释了美他多辛参与代谢过程的作用机制 (图 2E)。为深入探究美他多辛改善酒精性肝病的分子机制, 本研究进一步检测了肝脏组织中酒精肝相关基因 *Aldh1b1*、*Cyp2e1*、*Srebf1* 和 *Nfkb1* 等的表达水平。与模型组相比, 美他多辛干预显著改变了多个调控因子的 mRNA 表达水平: 一方面, 美他多辛上调了乙醛代谢关键酶 *Aldh1b1* 的表达 (图 2F); 另一方面, 美他多辛显著下调

了与氧化应激作用相关的基因 *Cyp2e1* mRNA 表达水平(图 2G)、脂质合成关键转录因子 *Srebf1* (图 2H) 和炎症核心调控因子 *Nfκb1* (图 2I) 的 mRNA 水平。上述结果共同表明, 美他多辛通过促进乙醛清除、减轻氧化应激、抑制脂质生成及缓解炎症反应等多重途径, 协同发挥其对酒精性脂肪肝的改善作用。

3 美他多辛增强线粒体呼吸功能

深入分析转录组数据发现, 美他多辛给药后能显著上调乙醛脱氢酶 (*Aldh1b1*) 的表达, 并引起多个糖脂代谢关键基因 (如 *Fabp1*、*Hsd3b5*、*Srebf1*、*Acly* 等) 的广泛变化, 且在美他多辛给药后, 这些基因的表达接近对照组 (图 3A)。鉴于线粒体在脂质氧化磷酸化中的核心地位, 本研究在乙醇诱导的细胞损伤模型中对线粒体功能进行了评估。结果显示, 美他多辛处理能全面增强线粒体功能 (图 3B)。具体而言, 美他多辛显著提升了细胞的基础呼吸能力 (图 3C) 与线粒体呼吸潜力 (图 3E), 并促进了 ATP 的生成 (图 3D), 同时降低了非线粒体途径的氧消耗 (图 3F), 增加线粒体质子漏 (图 3G), 这表明其作用主要依赖于线粒体氧耗途径。此外, 本研究分别进行了线粒体形态与功能分析。Mito-tracker deep red 染色显示, 乙醇处理导致肝细胞线粒体网络发生显著碎片化, 正常的管状结构被大量分散的点所取代, 而美他多辛处理后, 线粒体网状形态得到明显改善与恢复 (图 3H)。同时, JC-1 染色结果表明, 模型组细胞的线粒体膜电位 (ΔΨm) 显著降低, 表现为红/绿荧光强度比的急剧下降 (图 3I)。这表明乙

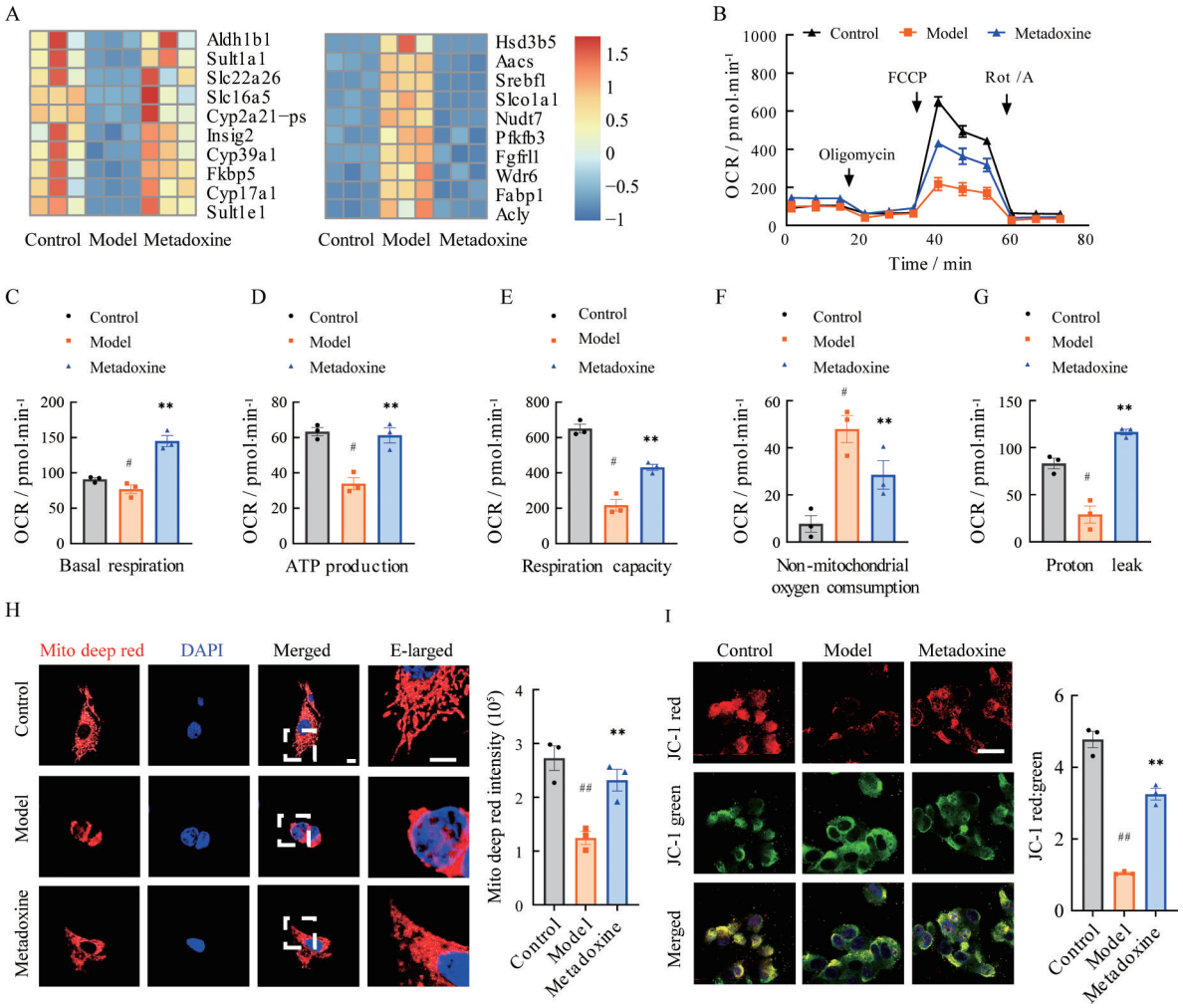


Figure 3 The invention of the metadoxine improves the mitochondrial function in HepG2 cells. A: The genes related metabolism after metadoxine administration of liver tissues; B: Oxygen consumption rate (OCR) after metadoxine administration in HepG2 cells; C: Basal respiration capacity after metadoxine administration; D: Adenosine triphosphate (ATP) production capacity; E: Mitochondrial respiratory potential after metadoxine administration; F: Non-mitochondrial oxygen consumption capacity; G: Proton leak; H: Mito-tracker deep red staining showing the mitochondrial morphology in HepG2 cells after metadoxine administration. Scar bar: 5 μm; I: Mitochondrial membrane potential (ΔΨm) in HepG2 cells was assessed by JC-1 staining after metadoxine administration. Scar bar: 20 μm. n = 3, mean ± SEM. $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* the control group; $^{**}P < 0.01$ *vs* the model group

醇暴露破坏了线粒体的结构完整性, 严重损害了线粒体呼吸功能。而美他多辛能增强线粒体呼吸功能 (如能增加线粒体基础呼吸能力和ATP生成能力), 这种作用可能是美他多辛减轻肝脏脂质堆积的原因之一。

4 美他多辛抑制p38 MAPK信号通路的磷酸化

为深入探究美他多辛对线粒体功能的作用机制, 本研究对转录组测序数据进行了通路富集分析。结果显示, 美他多辛处理后, 脂质代谢过程和脂肪酸代谢相关通路发生显著变化 (图4A)。KEGG分析进一步表明, 美他多辛给药组的MAPK信号通路显著富集 (图4B)。基于此, 本研究对肝组织中MAPK信号通路的亚型如p38和JNK进行了验证。如图4C所示, 相较于对照组, 模型组的p38 MAPK的磷酸化水平显著上升, MAPK信号通路中的JNK磷酸化水平未见明显改变。与此同时, 美他多辛给药后, p38 MAPK磷酸化水平相较于模型组显著性下调, 而MAPK信号通路中的JNK磷酸化水平未见明显改变, 提示美他多辛对MAPK通路的激活可能主要集中于p38 MAPK (图4C、D)。本研究进一步在细胞水平通过Western blot对p38 MAPK和JNK进行了检测。与组织结果一致, 在模型组中p38 MAPK磷酸化水平显著升高, 而美他多辛给药后其磷酸化明显降低; JNK则未呈现显著变化 (图4E、F)。以上结果表明, 美他多辛的作用机制可能与p38 MAPK通路密切相关。

5 美他多辛通过p-38 MAPK信号通路减少肝脏脂质积累

为探究美他多辛是否通过p38 MAPK通路发挥作用, 本研究使用p38 MAPK特异性抑制剂skepinone-L进行处理。如图5A～C所示, skepinone-L处理有效抑制p38 MAPK的磷酸化。值得注意的是, 在skepinone-L存在下, 美他多辛的加入并未进一步降低p-p38 MAPK水平, 其与单独skepinone-L处理组相比无显著差异, 提示美他多辛的作用主要依赖于p38 MAPK磷酸化。此外, 本研究在造模条件下检测了细胞中TC和

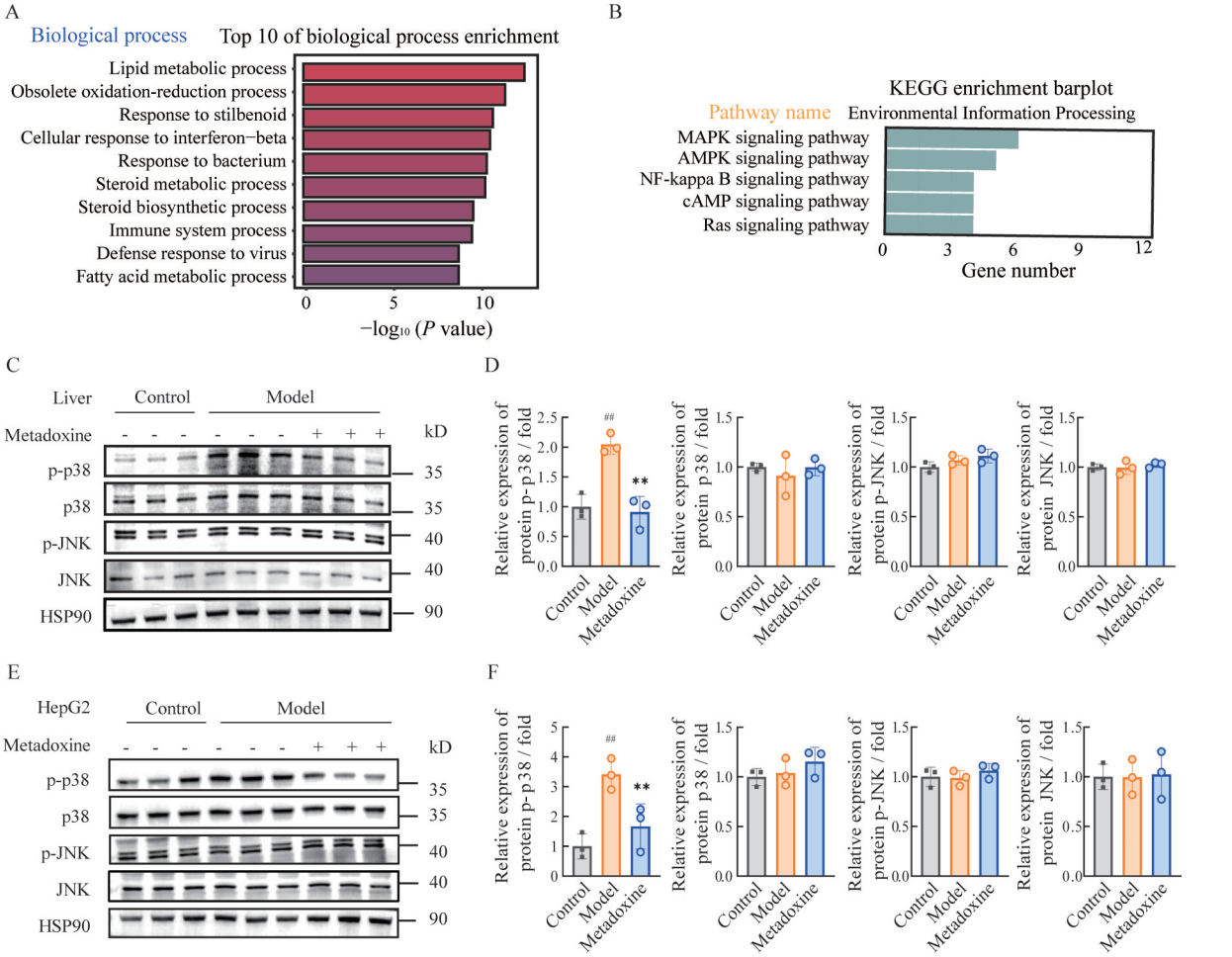


Figure 4 Activation of the p38 MAPK signaling pathway after the metadoxine administration. A: Enrichment of biological process signaling pathways after metadoxine administration; B: KEGG signaling pathway enrichment analysis; C: Protein blot images (in liver tissue); D: Quantitative analysis of protein blots shown in C; E: Protein blot images (in HepG2 cells); F: Quantitative analysis of protein blots shown in E. $n = 3$, mean ± SEM. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* the control group; $^{**}P < 0.01$ *vs* the model group

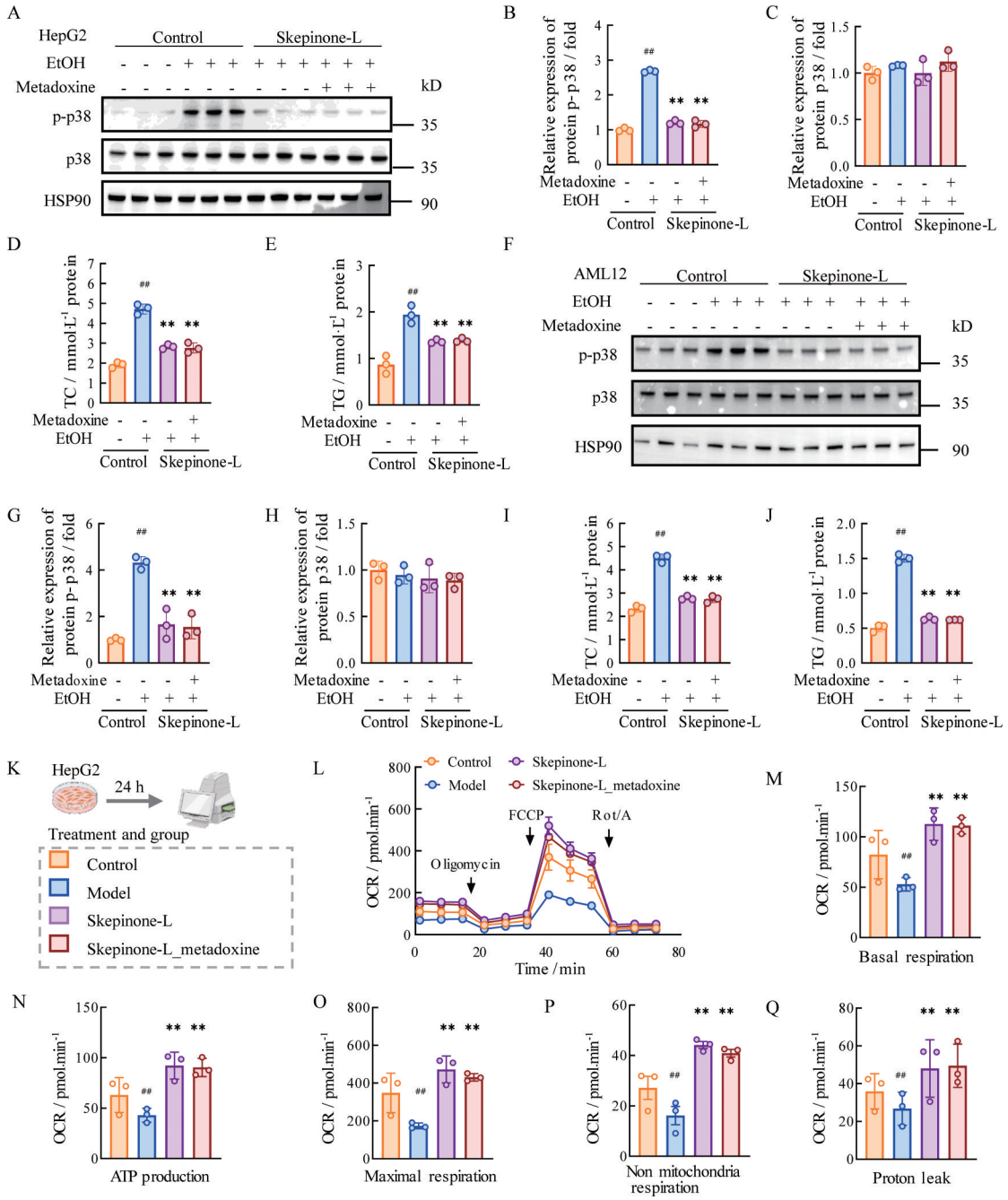


Figure 5 Metadoxine reduces hepatic lipid accumulation *via* the p38 MAPK signaling pathway. A: Representative images of Western blots in HepG2 cells; B, C: Quantitative analysis of bands shown in A; D: Intracellular TC content (in HepG2 cells); E: Intracellular TG content (in HepG2 cells); F: Representative images of Western blots in AML12 cells; G, H: Quantitative analysis of bands shown in F; I: Intracellular TC content in AML12 cells; J: Intracellular TG content in AML12 cells; K: Schematic diagram of the experimental workflow *in vitro*; L: OCR after metadoxine and skepinone-L administration in HepG2 cells; M: Basal respiration capacity; N: ATP production capacity; O: Mitochondrial respiratory potential; P: Non-mitochondrial oxygen consumption capacity; Q: Proton leak. $n = 3$, mean ± SEM. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* the control group; $^{**}P < 0.01$ *vs* the model group

TG 含量。在 skepinone-L 存在的情况下，美他多辛并未引起 TC 与 TG 水平的进一步下降，其与单独 skepinone-L 处理组相比亦无显著差异 (图 5D、E)。此外，在小鼠肝细胞 AML12 细胞系模型中也重复了同样处理。如图 5F 所示，在 skepinone-L 处理下，p38 MAPK 磷酸化被抑制，此时美他多辛未表现出额外的抑制作用。相应的 TC 与 TG 检测结果 (图 5I、J)，在 skepinone-L 存在的情况下，美他多辛未进一步降低脂质聚集。表明美他多辛主要通过 p38 MAPK 通路发挥调控作用。为了进一步说明美他多辛通过 p38 磷酸化增强线

粒体功能, 本研究利用 Seahorse 技术检测线粒体呼吸功能 (5K), 结果显示, skepinone-L 处理能全面增强线粒体功能 (图 5L)。具体而言, skepinone-L 显著提升了细胞的基础呼吸能力 (图 5M) 并促进了 ATP 的生成 (图 5N) 与线粒体呼吸潜力 (图 5O), 同时增加了非线粒体途径的氧消耗 (图 5P), 并少量增加质子漏水平 (图 5Q)。而在 skepinone-L 处理的情况下, 美他多辛与单独的 skepinone-L 处理组无显著性差异。这表明美他多辛改善线粒体功能的作用主要依赖于其对 p38 磷酸化的抑制。

为了进一步验证美他多辛通过 p38 MAPK 磷酸化发挥作用, 本研究设计了反向验证实验, 采用特异性 p38 激活剂分别在 HepG2 人肝癌细胞及 AML12 小鼠正常肝细胞中进行干预。在 HepG2 细胞中, p38 MAPK 激活剂处理显著上调了 p38 磷酸化水平, 而美他多辛处理能够有效逆转该效应 (图 6A～C), 提示美他多辛可抑制 p38 通路的激活。此外, 在 AML12 细胞中的结果与 HepG2 模型一致: 美他多辛同样能显著抑制激活剂诱导的 p38 磷酸化水平升高 (图 6D～F)。以上结果在多种细胞模型中共同证实, 美他多辛能够直接干预 p38 MAPK 的磷酸化过程, 从反向角度进一步明确了美他多辛通过抑制 p38 MAPK 激活发挥功能的作用机制。

讨论

酒精性肝病是一种持续酒精性饮食引起的肝脏病理性变化, 大约 20%～40% 的酗酒者会发展为更严重的酒精性肝病阶段, 包括酒精性肝炎、肝硬化, 甚至肝衰竭[14], 酒精性肝病的药物开发仍备受研究者的关注[15,16]。乙醇饮食能够引起肝细胞损伤, 线粒体功能障碍[17,18], 进而引起细胞内炎症因子的激活, 从而活化肝星状细胞并促进肝纤维化进程[19,20]。本研究表明, 在酒精性肝病模型中, 美他多辛能有效缓解酒精饮食引发的肝脏脂肪变性与炎症损伤。美他多辛给药后改善了小鼠体重以及血脂水平异常, 并改善了小鼠的肝功能。深入分析发现, 疗效的核心环节在于美他多辛抑制了肝脏的炎症反应, 从而减少肝星状细胞激活和抑制肝纤维化进程。

美他多辛的肝保护作用可能源于其对肝细胞核心代谢单元的多靶点调控[21]。经典的“解酒”与“抗氧化”机制为促进乙醛代谢与提升谷胱甘肽水平, 是其改善酒精性肝损伤的重要途径[22,23]。本研究发现, 美他多辛能逆转乙醇诱导的线粒体功能障碍, 这一发现为理解美他多辛的护肝作用提供了全新视角。本研究认为, 美他多辛的核心作用源于其对肝细胞线粒体功能的改善作用。线粒体损伤是酒精性与代谢性肝病共同的终末通路, 美他多辛通过强化这一细胞“能量工厂”的功能, 从上游同时缓解氧化应激、脂质堆积及炎症反应, 在多种肝损伤模型中发挥治疗效应。这一机制与美他多辛传统的抗氧化剂的定位不同, 将美他多辛提升为一种能够“改善细胞代谢基础”的多功能的肝保护剂, 这也为其显著的临床有效性与良好耐受性提供了新的理论解释。正是基于这一机制, 美他多辛展现出

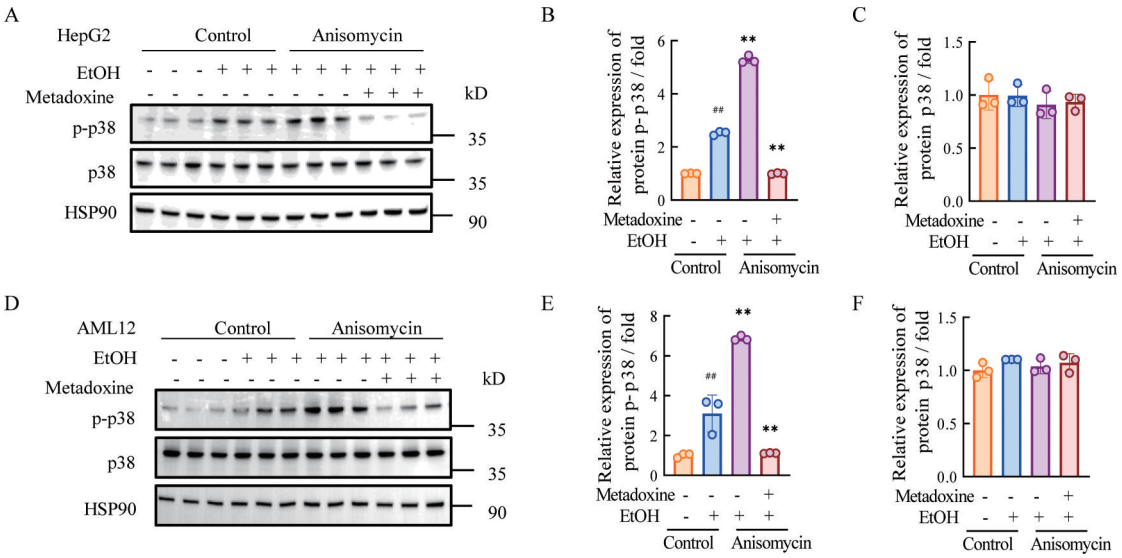


Figure 6 Metadoxine prevents p38 MAPK activation under the condition of p38 agonist stimulation. A: Representative Western blot images of p38 and p-p38 protein level in HepG2 cells treated with metadoxine under the condition of p38 agonist; B, C: Quantitative analysis of p-p38 and total p38 from panel (A), normalized to HSP90; D: Representative Western blot images of p38 and p-p38 protein levels in AML12 cells treated with p38 agonist; E, F: Quantitative analysis of p-p38 and total p38 from panel (D), normalized to HSP90. n = 3, mean ± SEM. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* the control group; $^{**}P < 0.01$ *vs* the model group

相较于水飞蓟宾、维生素E等传统直接抗氧化剂的显著优势: 它不仅通过提升谷胱甘肽水平增强“下游”抗氧化防御机制, 更能通过加速清除关键毒性代谢物乙醛从“上游”进行病因干预, 同时兼具改善线粒体功能, 实现了从病因清除到功能修复的多靶点协同治疗。

本研究利用RNA-Seq技术, 表明美他多辛通过激活MAPK信号通路, 成为改善肝细胞线粒体代谢、缓解肝脏炎症与纤维化的关键驱动因素。从而将美他多辛的作用与调控氧化应激与代谢的核心信号通路联系了起来。值得注意的是, MAPK通路在肝脏疾病中扮演着复杂的角色, 其特定分支 (如p38或JNK) 的激活通常与生存信号和代谢调节相关。因此, 美他多辛所触发的很可能是一种保护性的MAPK信号, 从而协同促进能量代谢、抑制氧化应激与炎性细胞因子的产生, 并阻断肝星状细胞的活化, 为其“广谱”且根本性的护肝作用提供了强有力的机制证据[24,25]。

本研究通过转录组测序与细胞生物学实验相结合, 系统揭示了美他多辛在酒精性肝病中的作用机制。研究发现, 美他多辛的肝保护效应核心在于对p38 MAPK信号通路的特异性激活。这一激活事件起到了中枢调控作用, 其下游通过直接促进肝细胞线粒体功能与增强脂质代谢, 从根源上减少了肝脏脂质堆积; 同时, p38 MAPK通路可能进一步通过调控其经典下游靶点, 如核因子-κB (NF-κB), 来抑制关键炎症因子及肝纤维化标志物的表达, 从而协同缓解肝脏的炎症与损伤[26,27]。值得注意的是, 肝病中的氧化应激是另一核心病理环节, 尽管有研究报道Nrf2通路是调控氧化应激的关键靶点[28,29], 但本研究的初步数据提示, 美他多辛的抗氧化作用可能独立于经典的Nrf2通路, 或与其他信号网络存在交叉对话, 这揭示了美他多辛作用机制的独特性与复杂性。

前期研究发现活化的p38 MAPK (p-p38) 可抑制线粒体功能, 通过磷酸化呼吸链复合物I和IV的亚基, 抑制线粒体酶活性, 降低氧化磷酸化效率和减少ATP合成[30]。本研究在酒精应激下, p-p38水平升高且线粒体呼吸功能 (基础呼吸、ATP生成呼吸) 被抑制。细胞模型的研究发现, 使用skepinone-L抑制p38 MAPK与美他多辛对线粒体呼吸功能的改善作用相似, 且在skepinone-L存在时美他多辛无额外的效果叠加。这表明, 在酒精肝损伤时, p38 MAPK的异常激活是线粒体功能障碍的原因之一。此外, 研究表明, 线粒体功能障碍产生的活性氧是激活p38 MAPK上游激酶 (如ASK1) 的关键信号[31]。活化的p-p38又可进一步损害线粒体, 导致线粒体碎片化, 功能不全的碎片化线粒体更易产生活性氧自由基[32]。本研究观察到酒精处理导致线粒体网状结构破坏, 而美他多辛可部分恢复线粒体形态, 这提示美他多辛可能抑制p-p38, 间接恢复线粒体功能。美他多辛的疗效主要通过抑制p38 MAPK磷酸化来实现。此外, p38 MAPK通过抑制线粒体功能, 可能间接导致脂肪酸氧化受阻, 转而促进脂质重新酯化为甘油三酯, 并在肝细胞内蓄积[33]。在本研究中, 抑制p38 MAPK可显著降低肝细胞内的TC和TG水平。这提示美他多辛通过抑制p38 MAPK磷酸化改善酒精性肝病肝细胞脂肪变性的机制。

综上所述, 本研究发现美他多辛可通过p38 MAPK信号通路, 显著减轻酒精性肝病小鼠的肝脂肪变性与炎症水平, 从而发挥明确的肝脏保护作用。进一步机制研究表明, 美他多辛能够有效增强肝细胞线粒体呼吸功能, 改善能量代谢状态, 提示其护肝作用与线粒体功能调控密切相关。上述结果从p38 MAPK通路角度阐释了美他多辛降低肝脏脂质积累的新机制, 拓展了对其多靶点护肝作用机制的理解, 为酒精性肝病的药物研发提供了新的实验依据和理论支撑。

致谢: 感谢合肥工业大学动物实验期间陈元利老师对动物操作的指导和实验动物伦理培训。

作者贡献: 王咏枝设计了实验, 整理了所有的数据图, 完成了细胞实验、动物实验取材和造模, 动物实验在合肥工业大学期间完成; 郭伊菲、李芸、周园奇协助完成转录组送样和数据分析; 李洪林为本研究提供了技术性指导; 张健为本实验提供了基金支持和文章的修订, 并负责了整个项目。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

[1] Wang C, Gong B, Peng D, et al. Agarwood extract mitigates alcoholic fatty liver in C57 mice *via* anti-oxidation and anti-inflammation [J]. Mol Med Rep, 2023, 28: 210

[2] Yuan J, Chen C, Cui J, et al. Fatty liver disease caused by high-alcohol-producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. Cell Metab, 2019, 30: 675-688.

[3] Fan JG, Xu XY, Yang RX, et al. Guideline for the prevention and treatment of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (version 2024) [J]. J Clin Transl Hepatol, 2024, 12: 955-974.

[4] Thoudam T, Chanda D, Lee JY, et al. Enhanced Ca^{2+}-channeling complex formation at the ER-mitochondria interface underlies the pathogenesis of alcohol-associated liver disease [J]. Nat Commun, 2023, 14: 1703.

[5] Torres S, Hardesty JK, Barrios MK, et al. Mitochondria and ALD: Pathogenic role and target for therapy [J]. Semin Liver Dis, 2024, 24: 2421.

[6] Seitz HK, Bataller R, Cortez PH, et al. Alcoholic liver disease [J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4: 16.

[7] Ki SH, Choi JH, Kim CW, et al. Combined metadoxine and garlic oil treatment efficaciously abrogates alcoholic steatosis and CYP2E1 induction in rat liver with restoration of AMPK activity [J]. Chem Biol Interact, 2007, 169: 80-90.

[8] Di Miceli M, Gronier B. Pharmacology, systematic review and recent clinical trials of metadoxine [J]. Rev Recent Clin Trials, 2018, 13: 114-125.

[9] Crabb DW, Bataller R, Chalasani NP, et al. Standard definitions and common data elements for clinical trials in patients with alcoholic hepatitis: Recommendation from the NIAAA alcoholic hepatitis consortia [J]. Gastroenterology, 2016, 150: 785-790.

[10] Bigot A, Duddy WJ, Ouandaogo ZG, et al. Age-associated methylation suppresses SPRY1, leading to a failure of Re-quiescence and loss of the reserve stem cell pool in elderly muscle [J]. Cell Rep, 2015, 13: 1172-1182.

[11] Suresh Babu K, Paradesi D. Investigation of related impurities in metadoxine by a reversed phase high performance liquid chromatography technique [J]. Anal Sci, 2021, 37: 581-584.

[12] Bertola A, Mathews S, Ki SH, et al. Mouse model of chronic and binge ethanol feeding (the NIAAA model) [J]. Nat Protoc, 2013, 8: 627-637.

[13] Zimmermann A, Zimmermann T, Schattenberg J, et al. Alterations in lipid, carbohydrate and iron metabolism in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and metabolic syndrome [J]. Eur J Intern Med, 2011, 22: 305-310.

[14] Nassir F, Ibdah JA. Role of mitochondria in alcoholic liver disease [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20: 2136-2142.

[15] Paluch AE, Boyer WR, Franklin BA, et al. Resistance exercise training in individuals with and without cardiovascular disease: 2023 update: A scientific statement from the American Heart Association [J]. Circulation, 2024, 149: e217-e231.

[16] Yang X, Bolatai A, An J, et al. Research progress of alternative polyadenylation in diseases related to glycolipid metabolism [J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2024, 17: 4277-4286.

[17] Fan H, Shen Y, Ren Y, et al. Combined intake of blueberry juice and probiotics ameliorate mitochondrial dysfunction by activating SIRT1 in alcoholic fatty liver disease [J]. Nutr Metab (Lond), 2021, 18: 50.

[18] Johnston MP, Patel J, Byrne CD. Causes of mortality in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and alcohol related fatty liver disease (AFLD) [J]. Curr Pharm Des, 2020, 26: 1079-1092.

[19] Mendonça CMN, Oliveira RC, Pizauro LJL, et al. Tracking new insights into antifungal and anti-mycotoxigenic properties of a biofilm forming *Pediococcus pentosaceus* strain isolated from grain silage [J]. Int J Food Microbiol, 2023, 405: 110337.

[20] Addolorato G, Ancona C, Capristo E, et al. Metadoxine in the treatment of acute and chronic alcoholism: A review [J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2003, 16: 207-214.

[21] Ozsoy Z, Ayan G, Durhan G, et al. Apical fibrobullous lung disease in spondyloarthritis patients with biological DMARD indication [J]. Rheumatology (Oxford), 2023, 63: 1147-1152

[22] Vonghia L, Leggio L, Ferrulli A, et al. Acute alcohol intoxication [J]. Eur J Intern Med, 2008, 19: 561-567.

[23] Goh ET, Morgan MY. Review article: Pharmacotherapy for alcohol dependence - the why, the what and the wherefore [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2017, 45: 865-882.

[24] Wang Q, Shi J, Zhao M, et al. Microbial treatment of alcoholic liver disease: A systematic review and meta-analysis [J]. Front Nutr, 2022, 11: 1054265.

[25] Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury [J]. J Clin Invest, 2004, 114: 147-152.

[26] Yu B, Zhang Y, Wang T, et al. MAPK signaling pathways in hepatic ischemia/reperfusion injury [J]. J Inflamm Res, 2023, 16: 1405-1418.

[27] Sarg NH, Zaher DM, Abu Jayab NN, et al. The interplay of p38 MAPK signaling and mitochondrial metabolism, a dynamic target in cancer and pathological contexts [J]. Biochem Pharmacol, 2024, 225: 116307.

[28] Gui C, Ren Y, Chen J, et al. p38 MAPK-DRP1 signaling is involved in mitochondrial dysfunction and cell death in mutant A53T α-synuclein model of Parkinson's disease [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2020, 388: 114874.

[29] Wang M. ACSS2 protects against alcohol-induced hepatocyte ferroptosis through regulation of hepcidin expression [J]. Nat Commun, 2025, 16: 5491.

[30] García RC, Fernández JC. Mitochondrial oxidative stress and antioxidants balance in fatty liver disease [J]. Hepatol Commun, 2018, 2: 1425-1439.

[31] Matsuzawa A, Saegusa K, Noguchi T, et al. ROS-dependent activation of the TRAF6-ASK1-p38 pathway is selectively required for TLR4-mediated innate immunity [J]. Nat Immunol, 2005, 6: 587-592.

[32] Liu W, Sun C, Yan Y, et al. Hepatic p38 activation modulates systemic metabolism through FGF21-mediated interorgan communication [J]. Diabetes, 2022, 71: 60-72

[33] Onomoto K, Onoguchi K, Yoneyama M. Regulation of RIG-I-like receptor-mediated signaling: Interaction between host and viral factors [J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18: 539-555.