

联苯双酯对小鼠代谢功能障碍相关脂肪性
肝病的保护作用研究Research on protective effects of bifendate on metabolic dysfunction – associated
steatotic liver disease in mice李 虹¹, 陈洁仪², 孙清华¹,
梁荣月¹, 付志方¹, 焦红梅¹(1. 北京大学 第一医院 老年病内科, 北京
100034; 2. 中国医学科学院 药物研究所, 北京
100050)LI Hong¹, CHEN Jie – yi²,
SUN Qing – hua¹,
LIANG Rong – yue¹,
FU Zhi – fang¹, JIAO Hong – mei¹(1. Department of Geriatrics, Peking
University First Hospital, Beijing 100034,
China; 2. Institute of Materia Medica,
Chinese Academy of Medical Sciences,
Beijing 100050, China)基金项目: 北京大学第一医院青年临床研究专
项基金资助项目; 北京大学第一医院
中西医协同旗舰医院建设试点基金
资助项目作者简介: 李虹(1975 –), 女, 副主任医师, 主要
从事老年医学方面的临床工作和
研究

通信作者: 付志方, 副主任医师

MP: 15010673913

E – mail: fuzhifang@126. com

摘要:目的 探讨联苯双酯对蛋氨酸 – 胆碱缺乏(MCD)饮食诱导的小鼠代谢功
能障碍相关脂肪性肝病(MASLD)的保护作用及其潜在机制。方法 雄性
C57BL/6J小鼠24只,随机分为对照组、模型组以及试验组,模型组用MCD饮食
喂养建立MASLD模型,试验组在建模的基础上给予联苯双酯($300\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
干预。6周后,用苏木精 – 伊红法和油红O染色法评估小鼠肝病理学,用试剂盒
法检测肝甘油三酯(TG)含量、血清脂多糖(LPS)水平和血清丙氨酸氨基转移酶
(ALT)水平,用高通量测序分析法检测肠道菌群组成与多样性,用蛋白质印迹法
检测闭锁小带蛋白-1(ZO-1)和闭合蛋白(Occludin)的相对表达水平。结果

油红O染色显示,试验组较模型组的肝细胞脂肪变性数量和程度均显著降
低。MCD饮食成功诱导小鼠脂肪性肝炎,表现为肝TG和血清ALT均显著升高
及明显肝细胞脂肪变性。对照组、模型组和试验组的肝TG含量分别为
(66.43 ± 14.58)、(231.29 ± 20.26)和(190.39 ± 29.33) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$;血清ALT水
平分别为(52.04 ± 16.80)、(219.74 ± 123.37)和(31.68 ± 10.70) $\text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$;LPS
水平分别为(0.89 ± 0.57)、(4.01 ± 0.65)和(0.52 ± 0.25) $\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$;ZO-1蛋
白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.94 、 0.06 ± 0.03 和 0.25 ± 0.27 ;Occludin蛋白
相对表达水平分别为 1.00 ± 0.57 、 0.06 ± 0.03 和 0.15 ± 0.15 ,试验组的上述指
标与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.001$)。联苯
双酯干预可显著降低血清ALT和肝TG水平,并显著减轻肝细胞脂肪变性的数
量和严重程度。在肠 – 肝轴方面,联苯双酯显著改善了模型小鼠肠道菌群的多样
性和丰度,特别是增加了与胆汁酸代谢密切相关的嗜胆菌属(*Bilophila*)和脱
硫弧菌属(*Desulfovibrio*)的相对丰度。同时,联苯双酯干预显著上调了肠道紧密
连接蛋白ZO-1和Occludin的表达,并降低了血清LPS水平。结论 联苯双酯
有效改善MCD饮食诱导的小鼠MASLD,其作用机制与调节肠 – 肝轴密切相关,
包括重塑肠道菌群结构(增加*Bilophila*和*Desulfovibrio*相对丰度)、增强肠道屏
障功能(上调紧密连接蛋白、降低血清LPS)以及潜在影响胆汁酸代谢。

关键词: 联苯双酯; 代谢功能障碍相关脂肪性肝病; 肠 – 肝轴; 保护作用

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.20.011

中图分类号: R97 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)20-2912-06

Abstract: Objective To explore the protective effects and potential
mechanism of bifendate against methionine – choline – deficient (MCD)
diet – induced metabolic dysfunction – associated steatotic liver disease
(MASLD) in mice. **Methods** A total of 24 male C57BL/6J mice were
randomly divided into control group, model group, and experimental
group. The model group was fed with MCD diet to establish the MASLD
model, while the experimental group received bifendate ($300\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

in addition to the MCD diet. After 6 weeks, liver pathology was assessed using Hematoxylin – Eosin (H&E) and Oil Red O staining. Hepatic triglyceride (TG) content, serum lipopolysaccharide (LPS) and serum alanine aminotransferase (ALT) levels were measured using assay kits. Gut microbiota composition and diversity were analyzed by high – throughput sequencing. The relative expression levels of the intestinal tight junction protein ZO – 1 and Occludin were detected by Western blot. **Results** Oil Red O staining revealed that the number and degree of hepatocellular steatosis were significantly reduced in the experimental group compared to the model group. The MCD diet successfully induced steatohepatitis in mice, characterized by significantly increased hepatic TG, serum ALT, and marked hepatocellular steatosis. Hepatic TG contents were (66.43 ± 14.58) , (231.29 ± 20.26) , and $(190.39 \pm 29.33) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ for the control, model and experimental groups, respectively; serum ALT levels were (52.04 ± 16.80) , (219.74 ± 123.37) and $(31.68 \pm 10.70) \text{IU} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; serum LPS levels were (0.89 ± 0.57) , (4.01 ± 0.65) and $(0.52 \pm 0.25) \text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. The relative expression levels of ZO – 1 were 1.00 ± 0.94 , 0.06 ± 0.03 and 0.25 ± 0.27 , respectively, and for Occludin were 1.00 ± 0.57 , 0.06 ± 0.03 and 0.15 ± 0.15 , respectively. Compared with the model group, the experimental group showed statistically significant differences in all the aforementioned indicators ($P < 0.05$, $P < 0.001$). Bifendate intervention significantly reduced serum ALT and hepatic TG levels and markedly alleviated the extent and severity of hepatocellular steatosis. Regarding the gut – liver axis, bifendate significantly improved the diversity and richness of the gut microbiota in model mice, particularly increasing the relative abundance of *Bilophila* and *Desulfovibrio*, genera closely related to bile acid metabolism. Furthermore, bifendate intervention significantly up – regulated the expression of intestinal tight junction proteins and decreased serum LPS levels. **Conclusion** Bifendate can effectively ameliorate MCD diet – induced steatohepatitis in mice. Its protective mechanism is closely related to the regulation of the gut – liver axis, including remodeling the intestinal flora structure (increasing the relative abundance of *Bilophila* and *Desulfovibrio*), enhancing intestinal barrier function (upregulating tight junction proteins, reducing serum LPS), and potentially affecting bile acid metabolism.

Key words: bifendate; metabolic dysfunction – associated steatotic liver disease; gut – liver axis; protective effect

代谢功能障碍相关脂肪性肝病 (metabolic dysfunction – associated steatotic liver disease, MASLD) 是遗传易感个体由于营养过剩和胰岛素抵抗引起的慢性进展性肝病,包括代谢相关脂肪肝、代谢相关脂肪性肝炎及其相关纤维化和肝硬化^[1-2]。随着经济发展和生活方式改变,MASLD 已成为全球慢性肝病的主要病因。流行病学研究显示,其全球患病率约为 25%,预计未来 10 年患病人数将增长 18.3%^[3]。中国人群患病率亦呈持续上升趋势,且存在显著的地区与种族差异^[4]。MASLD 可以促进心血管疾病、慢性肾病以及肝细胞癌的发病^[1-2,5-6]。研究证实,肠 – 肝轴在 MASLD 的发生发展中发挥重要影响,肠道菌群、肠源性代谢产物及肠道屏障功能是其关键因素。联苯双酯 (bifendate) 具有保护肝细胞、减轻肝病理损伤和增强肝解毒功能的作用。本研究以蛋氨酸 – 胆碱缺乏 (methionine – choline deficient, MCD) 饮食诱导的小鼠 MASLD 为模型,评估联苯双酯对肠道菌群组成和肠屏障功能的调控作用,旨在从肠 – 肝轴角度揭示其对肝细胞的保护机制。

材料和方法

1 材料

动物 雄性 C57BL/6J 小鼠,8 周龄,体重 24 ~ 26 g,SPF 级,购自北京维通利华实验动物技术公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2016 – 0006;动物使用许可证号:SYXK(京)2019 – 0023。本实验经中国医学科学院药物研究所实验动物管理与动物福利委员会批准 (伦理批号:2025 – 1462)。小鼠用塑胶盒饲养,喂以 SPF 级标准饲料;自由饮水,室温 20 ~ 25 °C,日温差 3 °C,湿度 50% ~ 60%,光照 12 h 明暗交替。

药品与试剂 联苯双酯片,规格:25 mg,批号:25060106,批准文号:国药准字 H23023485,中国黑龙江鸿祥制药有限公司生产;谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase/glutamic – pyruvic transaminase, ALT/GPT) 测试试剂盒,南京建成生物技术有限公司生产;(肝组织) 高脂样本甘油三酯 (triglyceride, TG) 酶法测定试剂盒,北京普利莱基因技术有限公司生产;蛋白酶抑

制剂混合物(protease inhibitor cocktail),上海MCE公司生产;放射性免疫沉淀测定分析(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解液(强)、BCA蛋白检测试剂盒、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis, SDS - PAGE)蛋白上样缓冲液($5\times$),均由上海碧云天生物技术股份有限公司生产;PAGE凝胶快速制备试剂盒(10%)和(15%),均由上海雅酶生物医药科技有限公司生产;彩色预染蛋白 marker(10~180 kd)和(10~245 kd),均由北京金普来生物科技有限公司生产;快速转膜缓冲液,南京艾思易生物科技有限公司生产;闭锁小带蛋白-1(zonula occludens - 1, ZO - 1)和闭合蛋白(Occludin),均由美国Invitrogen公司生产; β -肌动蛋白(beta - Actin, β - Actin)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(重链+轻链)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠免疫球蛋白G(重链+轻链),均由武汉爱博泰克生物科技有限公司生产;膜再生液(抗体去除液、抗体剥离液),由北京普利莱基因技术有限公司生产;超敏化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)试剂盒,苏州新赛美生物科技有限公司生产;革兰氏阴性菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)检测试剂盒,湛江安度斯生物有限公司生产;快速粪便DNA检测试剂盒(QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit),德国QIAGEN公司生产;Mayer苏木素染液和醇溶伊红染液,均由南昌雨露实验器材有限公司生产;油红O无水乙醇饱和溶液,北京国药集团化学试剂有限公司生产。

仪器 PowerPac HC 高电流电泳仪电源,美国Bio - Rad公司产品; μ Quant 微孔板分光光度计,美国Biotek仪器有限公司产品;F1.5 恒温混匀仪,德国Eppendorf公司产品;CKX41 倒置显微镜,日本奥林巴斯株式会社产品;Miseq PE300 测序平台,美国Illumina公司产品。

2 实验方法

2.1 联苯双酯混悬液制备方法

每次制备约3 d的给药量,精密称取对应重量的联苯双酯粉末,按 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot 10\text{ mL}^{-1}$,分多次加入对应体积0.5%羧甲基纤维素(carboxymethyl cellulose, CMC)溶液,研磨至形成均匀的混悬液。于4℃保存,3 d内使用完毕。

2.2 构建小鼠MASLD模型^[7-8]

用MCD饮食喂养构建小鼠MASLD模型。MCD饮食饲料完全不含或仅含极低水平的蛋氨酸和胆碱,以MCD饮食喂养小鼠,肝合成磷脂减少,不能有效地

合成极低密度脂蛋白,从而使甘油三酯在肝内积聚,肝组织出现脂肪变性。

2.3 动物分组与处理方法

将动物随机分为对照组、模型组和试验组,每组8只。试验组每日1次灌胃给予联苯双酯混悬液 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,每次给药前将动物称质量,按 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 计算给药体积。在试验组给予联苯双酯混悬液的同时,对照组和模型组小鼠给予等量的赋形剂0.5% CMC。对照组小鼠用蛋氨酸-胆碱充足对照饲料饲养,模型组及试验组用MCD饲料饲养。上述造模及治疗实验过程于动物适应性饲养7 d后开展,整个实验过程为期6周。

2.4 样本采集方法

在末次给药后处死小鼠,冰上收集血清、盲肠内容物和肝/小肠组织,于-80℃冷冻保存。

2.5 苏木精-伊红染色法和油红O染色法进行小鼠肝病理学分析

将肝组织置于10%的福尔马林中固定,石蜡包埋、切片后进行苏木精伊红染色(hematoxylin - eosin staining, H&E),评估损伤的严重程度。用油红O对肝组织的冰冻切片进行染色,观察肝中脂质积聚程度。

2.6 试剂盒法检测小鼠血清ALT、LPS及肝TG水平

严格遵守试剂盒说明书检测小鼠血清中的ALT、LPS和肝TG的水平。

2.7 高通量测序法分析小鼠盲肠内容物微生物多样性

实验结束时,将小鼠盲肠内容物收集在无菌低温保存管中,向保存管中充入氮气防止厌氧菌失活。微生物总DNA用QIAamp fast DNA Stool mini kit提取,DNA纯度及浓度经NanoDrop 2000和1%琼脂糖凝胶电泳评估。用16S rRNA基因V3 - V4高变区通用引物341F(5' - CCTAYGGGRBGCASCAG - 3')和806R(5' - GGACTACNNGGTATCTAAT - 3')进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增,在Illumina Miseq PE300 测序平台进行高通量测序。原始测序数据经Cutadapt软件去除接头序列,用DADA2算法在QIIME2 2020.6软件中完成质控、去噪、拼接及嵌合体去除,生成特征序列(amplicon sequence variants, ASVs)用于后续分析。样本间测序深度标准化后,用QIIME2软件计算 α 多样性指数(Chao指数和Shannon指数),确定肠道微生物群中各种细菌的丰度、多样性及具体组成情况。由奥维森基因科技(天津)有限公司进行样品处理和分析。

2.8 蛋白质印迹法检测小鼠肠上皮紧密连接蛋白相对表达水平

取不同组别小鼠的小肠组织,准确称质量并剪碎,每 50 mg 组织加入裂解液 500 μL 后置于冰上匀浆[裂解液中 RIPA: 苯甲基磺酰氟(phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF): cocktail = 100: 1: 1]。样品匀浆后置于冰上裂解 30 min, 4 ℃ 下以 $1.2 \times 10^4 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清测定样品中蛋白浓度。用 BCA 试剂盒测定上清液中的蛋白浓度。按样品中总蛋白终浓度为 $5 \text{ μg} \cdot \text{μL}^{-1}$ 配制样品体系,金属浴 100 ℃ 加热 8 min 使蛋白变性失活,冰上冷却 5 min, -20 ℃ 冻存,按照每孔 10 μL 上样。制备 SDS - PAGE 凝胶。进行蛋白电泳,结束后进行蛋白转膜。37 ℃ 空气浴,5% 脱脂奶粉震荡封闭 1 h, 封闭后用含 Tween - 20 的 Tris 缓冲盐溶液(tris - buffered saline with tween 20, TBST)洗去膜表面残留的奶粉。一抗 4 ℃ 振荡过夜, TBST 振荡洗涤 3 次,二抗 37 ℃ 空气浴振荡孵育 30 min, TBST 振荡洗涤 3 次。向聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上滴加 ECL 显影液,用 Cytiva AI800 凝胶成像系统捕获图像。用 ImageQuant TL 8.1 凝胶分析系统定量测定靶蛋白的相对表达水平。计算相对灰度值: 相对灰度值 = 目标蛋白实际灰度值/内参实际灰度值。

3 统计学处理

用 SPSS 27.0.1 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析(ANOVA)、LSD - t 检验或 Kruskal - Wallis 检验。

结 果

1 联苯双酯对 MASLD 模型小鼠脂肪性肝炎的保护作用

试验组小鼠每日 1 次灌胃给予联苯双酯混悬液 $300 \text{ mg} \cdot 10 \text{ mL}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, 对照组和模型组小鼠给予等量的赋形剂(0.5% CMC), 给药 6 周。

MCD 饮食 6 周后,模型组小鼠的血清 ALT 和肝 TG 均显著高于对照组(均 $P < 0.05$), 试验组小鼠的

血清 ALT 和肝 TG 均显著低于模型组(均 $P < 0.05$), 见表 1。

肝病理结果显示,试验组肝细胞脂肪变性数量和程度显著降低,见图 1。在光镜下($\times 200$), H&E 染色显示,对照组肝细胞形态规则、肝板排列整齐;模型组肝索结构紊乱,弥漫性微/大泡性脂肪变明显,可见肝细胞气球样变与散在炎性细胞浸润;与模型组相比,试验组脂滴空泡数量与体积均明显减少,肝板结构较为恢复,气球样变和炎症改变显著减轻。油红 O 染色进一步证实上述趋势,模型组出现大片、强阳性的红色脂滴沉积,而试验组阳性区域与染色强度均明显下降,仅见零散、小片状沉积,提示其能显著降低肝细胞内脂质负荷并改善脂肪变性。

2 联苯双酯对 MASLD 模型小鼠肠道菌群的调控作用

MCD 饮食 6 周后,观察 α 多样性指数(Chao 指数和 Shannon 指数)的变化。结果显示,模型组肠道菌群的多样性和丰度均显著低于对照组(均 $P < 0.001$), 口服联苯双酯则明显改善小鼠肠道菌群的多样性和丰度(均 $P < 0.001$), 见图 2。16S rRNA 测序显示,在门水平小鼠肠道菌群以厚壁菌门(*Firmicutes*, F)与拟杆菌门(*Bacteroidetes*, B)为主。MCD 饮食使模型组 F/B 比值显著升高,提示菌群向厚壁菌倾斜,肠道稳态受损;联苯双酯干预使 F/B 比值下降,呈一定纠偏趋势,表明其对 MCD 饮食引起的菌群失衡具有调节

表 1 3 组小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)和肝甘油三酯(TG)水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum alanine aminotransferase (ALT) and liver triglyceride (TG) levels in three groups of mice($\bar{x} \pm s$)

Group	ALT(IU · L ⁻¹)	TG(μmol · g ⁻¹)
Control	52.04 ± 16.80	66.43 ± 14.58
Model	219.74 ± 123.37 *	231.29 ± 20.26 *
Experimental	31.68 ± 10.70 [#]	190.39 ± 29.33 [#]

Control group: 0.5% CMC; Model group: 0.5% CMC; Experimental group: Intragastric administration of bifendate suspension $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ once a day; Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$.

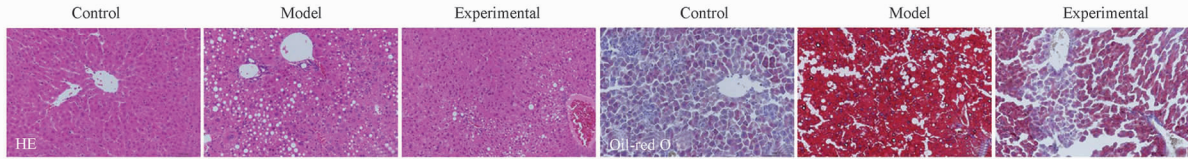


图 1 苏木精伊红染色法(H&E)和油红 O 染色法检测不同组别小鼠的肝病理表现($\times 200$)

Figure 1 Assessment of liver pathology in mice from different groups by hematoxylin - eosin staining(H&E)and Oil Red O staining($\times 200$)

作用。与对照组及模型组相比,试验组变形菌门(*Proteobacteria*)中与胆汁酸代谢有关的嗜胆菌属(*Bilophila*)和脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)相对丰度均显著增加,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.001$, $P < 0.05$),提示联苯双酯有可能影响胆汁酸代谢,见图3。MASLD模型小鼠伴有肠道菌群失调,联苯双酯可以改善肠道微生物群紊乱。

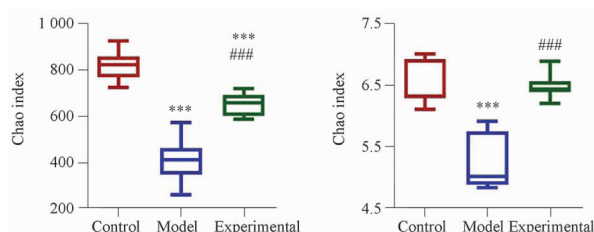


图2 小鼠肠道菌群 α 多样性指数

Figure 2 α -diversity indices of gut microbiota in three groups of mice

Compared with control group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, ### $P < 0.001$.

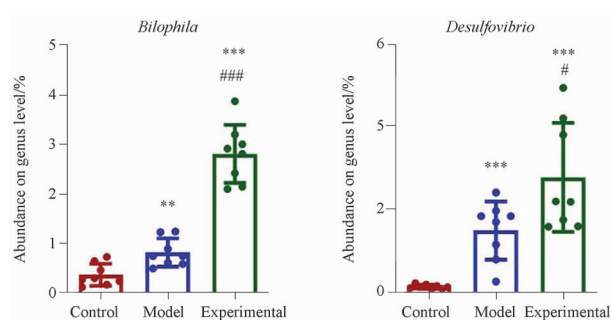


图3 小鼠肠道嗜胆菌属(*Bilophila*)和脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)相对丰度

Figure 3 Relative abundances of *Bilophila* and *Desulfovibrio* of gut microbiota in mice

Compared with control group, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Compared with model group, # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$.

3 联苯双酯对MCD饮食小鼠肠道屏障完整性的保护作用

6周后,对照组、模型组和试验组的ZO-1蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.94 、 0.06 ± 0.03 和 0.25 ± 0.27 ;Occludin蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.57 、 0.06 ± 0.03 和 0.15 ± 0.15 ,模型组小鼠肠道紧密连接蛋白ZO-1和Occludin相对表达水平均显著低于对照组,试验组小鼠ZO-1和Occludin相对表达水平均显著高于模型组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$);对照组、模型组和试验组的LPS水平分别为 (0.89 ± 0.57) 、 (4.01 ± 0.65) 和

(0.52 ± 0.25) EU $\cdot$ mL $^{-1}$,模型组小鼠血清LPS水平较对照组显著增加,试验组小鼠血清LPS水平较模型组显著降低(均 $P < 0.001$),见图4和图5。MCD饮食诱导的小鼠脂肪肝模型伴有肠屏障完整性破坏,联苯双酯可以保护肠屏障完整性。

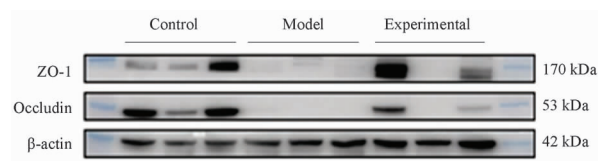


图4 蛋白质印迹法检测小鼠肠紧密连接蛋白的相对表达水平

Figure 4 Relative expression levels of intestinal tight junction proteins in three groups of mice detected by Western blot

ZO-1: Zonula occludens-1.

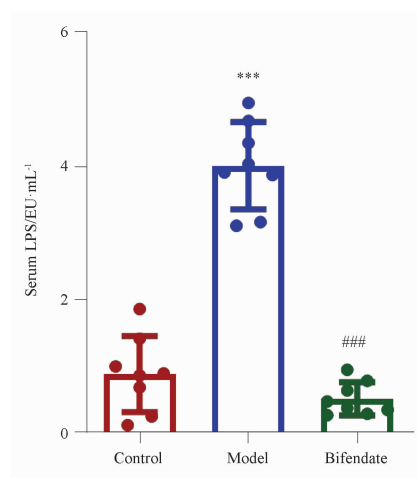


图5 小鼠血清脂多糖(LPS)水平

Figure 5 Serum lipopolysaccharide (LPS) levels in three groups of mice

Compared with control group, *** $P < 0.001$; Compared with model group, ### $P < 0.001$.

讨 论

MASLD已成为慢性肝病相关死亡率的主要原因,是我国日益严峻的公共卫生问题^[9-10]。其发生发展是多种因素共同造成的结果,除遗传、种族、饮食与环境外,糖脂代谢、氧化应激、线粒体功能障碍、肝-肠轴紊乱、炎症与免疫等起到重要作用。其中,肠-肝轴作为MASLD潜在治疗靶点引起了广泛关注^[9]。

肠-肝轴是连接肠道微生物和肝的桥梁,参与了机体多种物质的代谢,其中可能引起MASLD的发病机制主要为以下3种:肠道屏障受损、代谢紊乱、肠道

微生物成分及代谢产物改变。研究表明,高脂肪饮食、胆汁以及 LPS 等可以抑制肠道细胞间的紧密连接,破坏肠道粘膜屏障^[11-12]; MASLD 群体肠道 sIgA 含量及淋巴细胞的数量均低于健康人群。肠道菌群参与了体内多种物质代谢,主要涉及胆汁酸代谢、胆碱代谢、脂肪积累及胰岛素抵抗,这些因素均可促进 MASLD 的发生发展^[13]。肠道微生物成分及代谢物也直接参与了 MASLD 的发生和进展。与健康人群相比, MASLD 患者的肠道有益细菌减少,有害细菌增多,在疾病不同阶段引起各种代谢产物也发生明显改变。疾病初期, MASLD 患者粪便中的短链脂肪酸增多,随着病程发展而显著减少,其成分由最初的以丙酸盐、丁酸盐为主变为后期的乙酸盐为主。其可能机制为短链脂肪酸启动肠道细胞表面的 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPR)41、GPR43 以及 GPR109A 受体,降低胰岛素抵抗、减少炎症反应,从而改善 MASLD。而当 SCFAs 及丁酸盐减少时,脂质合成增加、炎症信号上调, MASLD 出现进展。此外, LPS 通过启动 Toll 样受体 4 引起 Kupffer 细胞分泌白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等,促进肝炎症及纤维化^[12]。

联苯双酯是人工合成五味子丙素的中间产物,是我国自主研发的一种保肝药物,广泛应用于病毒性肝炎、药物性肝损伤及其他慢性肝炎伴 ALT 升高的治疗。联苯双酯口服生物利用度约 20%~30%,吸收后主要分布在肝,肾次之。肝是其代谢的主要部位,48 h 内 70%~80% 自粪便排出^[14]。本研究通过 MCD 饮食诱导的小鼠 MASLD 模型,阐释了联苯双酯通过多靶点调控肠-肝轴发挥抗 MASLD 的作用机制。虽然联苯双酯存在溶解性差、生物利用度低的固有特性,我们的结果证实了其在相对较低的体内暴露水平下,依然能够有效改善肝脏脂肪变性、炎症损伤(显著降低血清 ALT 和肝脏 TG)及病理学改变。这一发现为探索靶向肠道微生态和屏障功能的 MASLD 治疗策略开辟了有价值的新方向。

本研究尚存在一定的局限性: MCD 饮食虽能快速诱导 MASLD 表型,但与人类 MASLD 的代谢背景(如胰岛素抵抗)存在差异;未对联苯双酯干预进行不同浓度分组,其保护作用是否存在剂量依赖性尚待进一步完善;未检测血清或肝脏中胆汁酸含量及相关代谢酶的表达,联苯双酯对菌群功能(如胆汁酸转化酶基因)的直接证据尚待补充。未来研究需在更接近人类 MASLD 的模型中验证,深入解析具体胆汁酸种类变

化及其介导的信号通路,并探索联苯双酯或其活性成分在肠道内的直接作用靶点。

参考文献:

- [1] RINELLA M E, NEUSCHWANDER - TETRI B A, SIDDIQUI M S, *et al.* AASLD practice guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2023, 77(5):1797-1835.
- [2] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组,中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 更新版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2018, 26(3):195-203.
- [3] ESTES C, ANSTEE Q M, ARIAS - LOSTE M T, *et al.* Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016 - 2030[J]. *J Hepatol*, 2018, 69(4):896-904.
- [4] 祁生贵, 更登, 李莉, 等. 非酒精性脂肪性肝病在不同海拔及不同民族人群中的患病率[J]. *环境卫生学杂志*, 2022, 12(7):533-536.
- [5] DUELL P B, WELTY F K, MILLER M, *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk: A scientific statement from the American heart association [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2022, 42(6):e168-e185.
- [6] SUN D Q, TARGHER G, BYRNE C D, *et al.* An international delphi consensus statement on metabolic dysfunction - associated fatty liver disease and risk of chronic kidney disease [J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2023, 12(3):386-403.
- [7] ANSTEE Q M, GOLDIN R D. Mouse models in non - alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research [J]. *Int J Exp Pathol*, 2006, 87(1):1-16.
- [8] LARTER C Z, YEH M M, WILLIAMS J, *et al.* MCD - induced steatohepatitis is associated with hepatic adiponectin resistance and adipogenic transformation of hepatocytes [J]. *J Hepatol*, 2008, 49(3):407-416.
- [9] LOU T W, YANG R X, FAN J G. The global burden of fatty liver disease: The major impact of China [J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2024, 13(1):119-123.
- [10] NAN Y, AN J, BAO J, *et al.* The Chinese society of hepatology position statement on the redefinition of fatty liver disease [J]. *J Hepatol*, 2021, 75(2):454-461.
- [11] 沈震洲, 张海燕, 刘立新. 代谢功能障碍相关脂肪肝病的研究进展 [J]. *安徽医药*, 2024, 28(8):1496-1502.
- [12] KOBAYASHI T, IWAKI M, NAKAJIMA A, *et al.* Current research on the pathogenesis of NAFLD/NASH and the gut - liver axis: Gut microbiota, dysbiosis, and leaky - gut syndrome [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19):11689. 2022 - 10 - 02 [2025 - 07 - 28]. <https://doi.org/10.3390/ijms231911689>.
- [13] SHAMA S, LIU W. Omega - 3 fatty acids and gut microbiota: A reciprocal interaction in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Dig Dis Sci*, 2020, 65(3):906-910.
- [14] 王晓良, 仪明光, 刘忠敏, 等. 联苯双酯的吸收、分布、代谢和排泄 [J]. *药学报*, 1983, 18(12):892-899.

(收稿日期 2025 - 07 - 31)