

引用:田甜,范立荣,李兰,武锐,郭焯,高志远,苏秀海,张俊玲.基于Hepcidin-Ferroportin信号通路研究苓桂术甘汤抑制铁死亡治疗非酒精性脂肪性肝炎的机制[J].中医导报,2026,32(2):24-31.

基于Hepcidin-Ferroportin信号通路研究 苓桂术甘汤抑制铁死亡治疗 非酒精性脂肪性肝炎的机制*

田甜¹,范立荣^{2,3},李兰¹,武锐¹,郭焯¹,高志远¹,苏秀海^{1,4},张俊玲⁵
(1.河北省沧州中西医结合医院,河北 沧州 061001;
2.泊头市中医医院,河北 沧州 062150;
3.范立荣名老中医专家工作室,河北 沧州 062150;
4.苏秀海名老中医专家工作室,河北 沧州 061001;
5.曹妃甸职业技术学院,河北 唐山 063200)

[摘要] 目的:研究苓桂术甘汤(LGZG)对非酒精性脂肪性肝炎(NASH)小鼠的治疗效果及其对铁调素(Hepcidin)-铁转运蛋白(Ferroportin)信号通路介导的铁死亡的影响。方法:将65只小鼠随机分为正常组(10只)和造模组(55只)。正常组小鼠常规饲料喂养,造模组小鼠通过蛋氨酸和胆碱缺乏饮食诱导建立NASH小鼠模型。将50只造模成功小鼠随机分为模型组、水飞蓟宾(SFJB)组、LGZG低剂量组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组,每组10只。各组灌胃不同剂量的相应药物。6周后称量各组小鼠体质量、肝脏质量,并计算肝指数;检测血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平及肝组织中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)水平;肝组织HE染色评估肝脏病变情况,并评定非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)活动度评分(NAS);冰冻组织油红O染色观察脂肪在肝组织中的分布情况,并计算平均光密度(AOD)评估小鼠肝组织脂质堆积水平;检测肝组织总铁(Fe)、活性氧(ROS)、4-羟基壬烯醛(4-HNE)、丙二醛(MDA)水平;采用qPCR检测小鼠肝组织酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(ACSL4) mRNA、转铁蛋白(Trf) mRNA、铁反应元件结合蛋白2(IREB2) mRNA、铁蛋白重链(Fth) mRNA、铁调素(Hamp) mRNA、铁转运蛋白(Slc40a1) mRNA表达水平;采用Western blotting法检测小鼠肝组织ACSL4、铁传递蛋白(Transferrin)、IREB2、Fth、Hepcidin、Ferroportin蛋白表达水平。结果:模型组小鼠体质量低于正常组($P<0.01$),肝指数高于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠体质量高于模型组($P<0.01$),肝指数低于模型组($P<0.01$)。模型组小鼠血清ALT、AST水平及肝脏TC、TG水平高于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠血清ALT、AST水平及肝脏TC、TG水平均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。HE和油红O染色结果显示,正常组小鼠肝脏结构清晰,肝板排列有序;模型组小鼠肝脏出现明显的肝细胞索排列异常,存在显著的脂肪变性特征;与模型组相比,LGZG低剂量组小鼠肝组织损伤有所减轻,脂滴数量减少,肝细胞结构较为完整;SFJB组、LGZG中剂量组和LGZG高剂量组小鼠肝组织结构明显改善,肝细胞排列趋于正常,脂肪变性程度显著减轻。模型组小鼠NAS、AOD高于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠NAS、AOD均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。模型组小鼠肝组织Fe、ROS、4-HNE、MDA水平高于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠肝组织Fe、ROS、4-HNE、MDA水平低于模型组($P<0.01$)。模型组小鼠肝脏ACSL4、Transferrin、IREB2、Hepcidin蛋白相对表达量高于正常组($P<0.01$),Fth、Ferroportin蛋白相对表达量低于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠肝组织ACSL4、Transferrin、IREB2蛋白相对表达量均低于模型组,Fth蛋白相对表达量均高于模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);SFJB组、LGZG低剂量组、LGZG中剂量组及LGZG高剂量组小鼠肝组织Hepcidin蛋白相对表达量均低于模型组,Ferroportin蛋白相对表达量均高于模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。模型组小鼠肝脏ACSL4 mRNA、Trf mRNA、IREB2 mRNA、Hamp mRNA相对表达量高于正常组($P<0.01$),Fth mRNA、Slc40a1 mRNA相对表达量低于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠肝组织ACSL4 mRNA、Trf mRNA、IREB2 mRNA、Hamp mRNA相对表达量均低于模型组,Fth mRNA、Slc40a1 mRNA相对表达量均高于模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:苓桂术甘汤对NASH小鼠具有治疗作用,可改善NASH小鼠肝脏脂质过氧化,其作用机制可能与调控Hepcidin-Ferroportin信号通路来改善铁死亡有关。

[关键词] 非酒精性脂肪性肝炎;苓桂术甘汤;铁死亡;脂质过氧化;Hepcidin-Ferroportin通路;小鼠

*基金项目:第六批全国老中医药专家学术经验继承工作(中国中医药人教发[2022]75号)

通信作者:张俊玲,女,副教授,研究方向为中西医结合基础研究

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)02-0024-08
DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.02.005

The Mechanism of Lingui Zhugan Decoction (苓桂术甘汤) in Inhibiting Ferroptosis for Treating Nonalcoholic Steatohepatitis via the Hepcidin-Ferroportin Signaling Pathway

TIAN Tian¹, FAN Lirong^{2,3}, LI Lan¹, WU Rui¹, GUO Xuan¹, GAO Zhiyuan¹, SU Xiuhai⁴, ZHANG Junling⁵
(1.Cangzhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Cangzhou Hebei 061001, China; 2.Botou City Traditional Chinese Medicine Hospital, Cangzhou Hebei 062150, China; 3.Fanjilong Renowned Elder Chinese Medicine Doctor Expert Studio, Cangzhou Hebei 062150, China; 4.Su Xiuhai Renowned Elder Chinese Medicine Expert Studio, Cangzhou Hebei 061001, China; 5.Caofeidian Vocational and Technical College, Tangshan Hebei 063200, China)

[Abstract] Objective: To investigate the therapeutic effect of Lingui Zhugan decoction (LGZG) on mice with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and its impact on ferroptosis mediated by the Hepcidin-Ferroportin signaling pathway. Methods: Totally 65 mice were randomly divided into a normal group ($n=10$) and a modeling group ($n=55$). Mice in the normal group were fed a standard diet, while a NASH mouse model was established in the modeling group using a methionine and choline-deficient diet. The 50 successfully modeled mice were then randomly assigned to model group, silibinin (SFJB) group, low-dose LGZG group, medium-dose LGZG group, and high-dose LGZG group, 10 rats in each group. Each group received the corresponding drug at different doses via gavage. After six weeks, body weight and liver weight were measured, and the liver index was calculated. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), as well as liver levels of total cholesterol (TC) and triglycerides (TG), were detected. Liver histopathological changes were assessed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the NAFLD activity score (NAS) was evaluated. Frozen liver sections were stained with Oil Red O to observe lipid distribution, and the average optical density (AOD) was calculated to assess hepatic lipid accumulation. Levels of total iron (Fe), reactive oxygen species (ROS), 4-hydroxynonenal (4-HNE), and malondialdehyde (MDA) in liver tissue were measured. The expression levels of acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4) mRNA, transferrin (Trf) mRNA, iron-responsive element-binding protein 2 (IREB2) mRNA, ferritin heavy chain (Fth) mRNA, hepcidin (Hamp), and ferroportin (Slc40a1) mRNA in mouse liver were detected by qPCR. The protein expression levels of ACSL4, Transferrin, IREB2, Fth, Hepcidin, and Ferroportin in mouse liver were detected by Western blotting. Results: Compared with the normal group, the model group showed significantly lower body weight and a higher liver index ($P<0.01$). Compared with the model group, the SFJB, medium-dose LGZG, and high-dose LGZG groups showed significantly higher body weight and lower liver index ($P<0.01$). Compared with the normal group, the model group showed significantly higher serum ALT and AST levels and hepatic TC and TG levels ($P<0.01$). Compared with the model group, the SFJB, medium-dose LGZG, and high-dose LGZG groups showed significantly lower serum ALT and AST levels and hepatic TC and TG levels ($P<0.05$ or $P<0.01$). HE and Oil Red O staining showed clear liver structure and orderly hepatic plates in the normal group, while the model group exhibited obvious hepatocyte cord derangement and significant steatosis. Compared with the model group, liver injury was alleviated, lipid droplets were reduced, and hepatocyte structure was more intact in the low-dose LGZG group. Liver structure was markedly improved, hepatocyte arrangement tended to be normal, and steatosis was significantly reduced in the SFJB, medium-dose LGZG, and high-dose LGZG groups. Compared with the normal group, the model group showed significantly higher NAS and AOD ($P<0.01$). Compared with the model group, the SFJB, medium-dose LGZG, and high-dose LGZG groups showed significantly lower NAS and AOD ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with the normal group, the model group showed significantly higher hepatic Fe, ROS, 4-HNE, and MDA levels ($P<0.01$). Compared with the model group, the SFJB, medium-dose LGZG, and high-dose LGZG groups showed significantly lower hepatic Fe, ROS, 4-HNE, and MDA levels ($P<0.01$). Compared with the normal group, the model group showed significantly higher relative expression levels of ACSL4, Transferrin, IREB2, and Hepcidin, but significantly lower levels of Fth and Ferroportin, in the liver ($P<0.01$). Compared with the model group, the SFJB, medium-dose LGZG, and high-dose LGZG groups showed significantly lower relative expression levels of ACSL4, Transferrin and IREB2, but significantly higher level of Fth, in the liver ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with the model group, the SFJB, low-dose LGZG, medium-dose LGZG, and high-dose LGZG groups showed significantly lower relative expression level of Hepcidin and higher level of Ferroportin in the liver ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with the normal group, the model group showed significantly higher relative expression levels of ACSL4 mRNA, Trf mRNA, IREB2 mRNA and Hamp mRNA, but significantly lower levels of Fth mRNA and Slc40a1 mRNA,

in the liver ($P<0.01$). Compared with the model group, the SFJB, medium-dose LGZG, and high-dose LGZG groups showed significantly lower relative expression levels of ACSL4 mRNA, Trf mRNA, IREB2 mRNA and Hamp mRNA, but significantly higher level of Fth mRNA and Slc40a1 mRNA, in the liver ($P<0.05$ or $P<0.01$). Conclusion: Lingui Zhugan decoction has a therapeutic effect on NASH mice and it can alleviate hepatic lipid peroxidation. Its mechanism may be related to regulating the Hecpudin-Ferroportin signaling pathway to ameliorate ferroptosis.

[Keywords] nonalcoholic steatohepatitis; Lingui Zhugan decoction; ferroptosis; lipid peroxidation; Hecpudin-Ferroportin pathway; mice

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)是指除饮酒、药物或遗传等因素导致肝细胞病变的疾病。NASH特征是血清生化酶学指标异常,具体表现为肝细胞内脂肪样变比例超过5%,并伴有明显的炎症反应及肝细胞损伤迹象^[1]。据统计,全球非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率为25%~30%,其中发展为NASH的占25%^[2]。NASH发病率急剧攀升,已跃居为全球慢性肝病的主要诱因之首。若缺乏有效的管理措施,部分病例可能逐步恶化,发展为肝硬化乃至肝癌,进而对公众的健康构成重大威胁^[3]。因此,寻求有效药物成为了近年来的研究焦点。

中医药治疗NASH已形成特有的辨治思路。如泽曲明山复方具有改善细胞炎症和脂质代谢的作用。泽曲明山复方可以通过磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)通路来缓解NASH模型的肝细胞脂肪样变^[4]。地奥心血康治疗NASH疗效显著,可以通过激活胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)/PI3K/Akt信号通路改善NASH模型的肝细胞脂肪堆积^[5]。肉桂醛是从肉桂中提炼出的一种单体,可以通过调节腺苷活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)/固醇调节元件结合蛋白1c(sterol regulatory element-binding protein 1c, SREBP1c)信号通路改善肝细胞损伤^[6]。这些中药复方和单体可缓解患者肋肋胀满不适、周身困重等临床症状。

苓桂术甘汤(Lingui Zhuagan Decoction, LGZG)由茯苓、桂枝、白术、炙甘草组成,具有健脾祛湿、温阳化饮、柔肝止痛、通腑祛浊之功^[7]。临床试验发现, LGZG能有效改善肝细胞炎症和脂质代谢^[8],但LGZG治疗NASH的具体作用机制仍不明确。因此为了深入探究LGZG治疗NASH的作用机制,本研究采用蛋氨酸和胆碱缺乏(methionine and choline deficiency, MCD)饮食诱导的NASH小鼠模型作为实验对象,观察LGZG对NASH小鼠肝脏病理改变、脂肪变性、炎症反应及肝功能等相关指标的影响,以期探讨LGZG治疗NASH的可能机制。

1 材料

1.1 实验动物 65只SPF级雄性C57BL/6小鼠,8周龄,体质量(22.85±1.56)g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司。动物生产许可证号:SYXK(京)2019-0030;动物质量合格证号:110324230101462148。饲养条件:温度(25±2)℃,相对湿度(55±5)%,12 h光照与12 h黑暗交替循环,小鼠自由摄取食物和水分。本实验由河北省沧州中西医结合医院伦理委员会批准(CZX2025121)。

1.2 药物与试剂 苓桂术甘汤组成:茯苓12 g,桂枝9 g,生白术9 g,甘草6 g。茯苓(北京益通柏瑞医药科技有限公司,批号:240116002);桂枝(安徽友信药业有限公司,批号:230401);生白术(山东百味堂中药饮片有限公司,批号:241202);甘草(山东百味堂中药饮片有限公司,批号:240201)。中药饮片经河北省沧州中西医结合医院中药药理学部主任中药师李宝芬鉴定为正品。中药煎煮浓缩(生药质量浓度为1 g/mL)灭菌后于4℃冰箱保存备用。水飞蓟宾(SFJB)(天士力药业股份有限公司,批号:H20040299);MCD饲料(北京斯贝福有限公司,批号:SFD024);天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)测试盒(批号:C010-2-1)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)测试盒(批号:C009-2-1)、总胆固醇(total cholesterol, TC)测试盒(批号:A111-1-1)、甘油三酯(triglyceride, TG)测试盒(批号:A110-1-1)、组织铁(tissue iron)测试盒(批号:A039-2-1)、4-羟基壬烯醛(4-Hydroxynonenal, 4-HNE)测试盒(批号:H268-1-1)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)测试盒(批号:A003-1-2)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)测试盒(批号:E004-1-1)均购自南京建成生物工程研究所;铁蛋白重链(ferritin heavy chain1, Fth-1)抗体(批号:11682-1-AP)、酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(acyl coenzyme A synthase, ACSL4)抗体(批号:22401-1-AP)、β-肌动蛋白(beta-Actin, β-actin)抗体(批号20536-1-1AP)均购自美国Proteintech公司;转铁蛋白(transferrin, Trf)测试盒(批号:bs-2052R)购自中国bioass公司;铁转运蛋白(ferroportin, FPN)测试盒(批号:ab239583)、铁反应元件结合蛋白2(iron-regulatory protein2, IREB2)测试盒(批号:ab181153)均购自英国abcam公司;铁调素(Hepcidin)抗体(批号:29572S)购自美国Cell Signaling公司。

1.3 主要仪器 SYD-B-F型石蜡包埋机购自沈阳誉德电子仪器有限公司;RM016型石蜡切片机购自德国徕卡公司;CFX96型荧光定量PCR仪、Mini Protean型双垂直电泳仪、转印电泳仪均购自美国伯乐生命医学产品公司;IX2-UCB-2型光学显微镜购自Olympus公司;荧光定量聚合酶链反应PCR仪购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

2 方法

2.1 NASH小鼠模型建立与分组 经过7 d的适应性喂养后,将65只小鼠随机分为正常组(10只)和造模组(55只)。正常组小鼠继续接受常规饲料喂养,造模组小鼠改用MCD饲料喂养6周,以此方法诱导构建NASH模型^[9]。造模组随机选择5只小鼠进行血清学和病理检测。造模成功后可见小鼠体质量显著下降,肝脏出现黄白色变性、体积缩小,血清ALT、AST水平明

显升高,并经肝组织HE及油红O染色观察可见明显脂肪变性、炎症细胞浸润及肝细胞气球样变。

将50只造模成功小鼠随机分为模型组、SFJB组、LGZG低剂量组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组,每组10只。

2.2 给药 SFJB组小鼠予SFJB(0.04 g/kg)灌胃^[10],LGZG低、中、高剂量组分别给低剂量(3.70 g/kg)、中剂量(7.40 g/kg)、高剂量(14.80 g/kg)LGZG灌胃(按照人和小鼠体表面积换算,分别等效于成人临床剂量的1、2、4倍),正常组和模型组同期给予等体积的生理盐水,1次/d,持续6周。

2.3 观察指标

2.3.1 体质量、肝指数 给药结束后,称量各组小鼠的体质量。取材后称量各组小鼠肝脏质量并计算肝指数,肝指数=肝脏质量/体质量×100%。

2.3.2 血清ALT和AST水平 通过眼球摘除的方式采集小鼠血液样本,离心(3 000 r/min,离心半径8.0 cm)15 min,分离血清,随后采用测试盒检测血清ALT和AST水平。

2.3.3 肝组织TG、TC、组织铁(Fe)、4-HNE、MDA、ROS水平 给药结束后,小鼠经1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(50 mg/kg),确认麻醉充分后处死取材。迅速取出小鼠新鲜肝脏组织,将肝脏样本与生理盐水以1:9的体积比混合,随后在冰水中超声匀浆,离心(2 500 r/min,离心半径6.88 cm)10 min,分离出上清液即为所需的10%肝组织匀浆,随后采用测试盒检测匀浆中TG、TC、Fe、4-HNE、MDA及ROS水平。

2.3.4 肝组织病理学染色 取小鼠新鲜肝脏组织,一部分组织置于4%多聚甲醛溶液中进行固定,固定时间不少于48 h,另一部分组织在-80℃保存。并评定非酒精性脂肪性肝病活动度评分(nonalcoholic fatty liver disease activity score,NAS)。NAS依据脂肪变性、小叶炎症及肝细胞气球样变3项指标计算,总分0~8分(见表1)。NAS总分≥5分提示NASH,<3分提示非NASH,3~4分需结合其他指标判断^[11]。此外,将-80℃保存的肝组织进行冰冻切片,并通过油红O染色观察脂肪在肝组织中的分布情况。使用Image J软件对油红O染色中阳性区域进行量化,并计算平均光密度(average optical density,AOD)评估各组小鼠肝组织脂质堆积水平。AOD数值越大,表示肝脏内脂质沉积越明显。

表1 NAS评估标准

评估指标	评估标准
脂肪变性	根据脂肪细胞变性范围评定,0分:<5%;1分:5%~33%;2分:34%~66%;3分:>66%
小叶炎症	根据200倍视野内坏死灶数量评定,0分:无;1分:<2个;2分:2~4个;3分:>4个
肝细胞气球样变	0分:无;1分:少量;2分:明显

2.3.5 肝组织 Acs14 mRNA、Trf mRNA、Ireb2 mRNA、Fth mRNA、Hamp mRNA、Slc40a1 mRNA 表达水平 采用qPCR检测小鼠肝组织 Acs14 mRNA、Trf mRNA、Ireb2 mRNA、Fth mRNA、Hamp mRNA、Slc40a1 mRNA 表达水平。将100 mg肝组织冰上匀浆,加入1 mL TRIzol Reagent,抽提总RNA,应用Nanodrop 2000分光光度计分析其浓度,按照反转录试剂盒说明,将RNA反转录成cDNA。反应体系:2x qPCR Mix 7.5 μL, 2.5 μmol/L基因引物1.5 μL,反转录产物2.0 μL,双蒸水(ddH₂O)4.0 μL。引物信息见表2。扩增条件:预变性95℃ 10 min,循环40次95℃ 15 s→60℃ 60 s,溶解曲线 60℃→95℃每15 s升温0.3℃。结果应用2^{-ΔΔCt}计算。

表2 引物信息

目的基因	序列(5'→3')	扩增产物片段长度/bp
Acs14	上游引物:CACTGTCCCCTCAGACACAC	157
	下游引物:TCAGCCCATATCCCTGACCA	
Trf	上游引物:GGCATCGGACACTAGCATCA	150
	下游引物:GCGCAGCCTTACTGAAAAA	
IREB2	上游引物:TCACCCGCTGGAAGTATTGC	109
	下游引物:GGGAGCTGGCTTCCCAATAA	
Fth	上游引物:CTGGAAGTGCACAACTGGC	128
	下游引物:CTCTCATCACCGTGTCCAG	
Hamp	上游引物:CTTTGACGCGGAAGAAAGC	131
	下游引物:TGCAGATGGGAAGTGTGTG	
Slc40a1	上游引物:GGCACTTTCAGTCTCTGTG	92
	下游引物:GTCACCAATGATGGCTCCCA	
Actb	上游引物:GATATCGCTGCGTGTCCGATCCACCA	138
	下游引物:TCACACCCT	

2.3.6 肝组织 ACSL4、Transferrin、IREB2、FTH、Hepcidin、Ferroportin 蛋白表达水平 采用Western blotting法检测小鼠肝组织中中铁死亡相关蛋白(ACSL4、Transferrin、IREB2、FTH)及Hepcidin-Ferroportin轴相关蛋白(Hepcidin、Ferroportin)表达水平。取小鼠肝脏组织加入RIPA裂解液并匀浆以及离心,随后用BCA试剂盒检测提取物的蛋白浓度。利用电泳将蛋白混合物分离成单一组分,并将蛋白转移至PVDF膜上,然后加入对应一抗(ACSL4、Transferrin、IREB2、FTH、Hepcidin、Ferroportin及β-actin,各抗体稀释比例分别为1:12 000、1:10 000、1:2 000、1:4 000、1:1 000、1:2 000、1:10 000),在4℃条件下孵育过夜。次日,将膜洗涤后,与相应的二抗(稀释比例1:20 000)在室温下孵育2 h。经过TBST洗涤,采用ECL化学发光法进行显影,并扫描记录电泳条带图像。利用Image J软件对条带图像进行光密度分析,以量化各蛋白的表达量。

2.4 统计学方法 采用SPSS 26.0软件统计分析数据,采用Graphpad Prism 10.4.0软件进行数据可视化。计量资料以“均数±标准差”(x̄±s)表示。多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用最小显著性差异法(LSD)进行检验。P<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠体质量及肝指数比较 模型组小鼠体质量低于正常组(P<0.01),肝指数高于正常组(P<0.01);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠体质量均高于模型组,肝指数均低于模型组,差异均有统计学意义(P<0.05或P<0.01)。(见表3)

表3 各组小鼠体质量及肝指数比较(x̄±s)

组别	n	给药剂量/(g/kg)	体质量/g	肝指数/%
正常组	10		31.54±2.95	3.28±0.40
模型组	10		13.99±1.46 ^a	5.27±0.82 ^a
SFJB组	10	0.04	18.32±1.67 ^b	4.03±0.40 ^b
LGZG低剂量组	10	3.70	15.17±1.88	5.06±0.73
LGZG中剂量组	10	7.40	15.93±1.57 ^c	4.58±0.37 ^c
LGZG高剂量组	10	14.80	16.85±2.20 ^b	4.38±0.36 ^b
F			108.206	19.493
P			0.001	0.001

注:与正常组比较,^aP<0.01;与模型组比较,^bP<0.01,^cP<0.05。

3.2 各组小鼠血清ALT、AST水平及肝脏TC、TG水平比较
模型组小鼠血清ALT、AST水平及肝脏TC、TG水平高于正常组($P<0.01$)。SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠血清ALT、AST水平及肝脏TC、TG水平均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表4~5)

表4 各组小鼠血清ALT、AST水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量/(g/kg)	ALT/(U/L)	AST/(U/L)
正常组	10		40.28 ± 17.35	63.86 ± 18.74
模型组	10		208.62 ± 53.06 ^a	209.23 ± 73.08 ^a
SFJB组	10	0.04	74.89 ± 23.35 ^a	117.61 ± 37.91 ^a
LGZG低剂量组	10	3.70	178.88 ± 53.88	179.66 ± 89.51
LGZG中剂量组	10	7.40	153.66 ± 41.32 ^c	144.41 ± 37.87 ^c
LGZG高剂量组	10	14.80	128.69 ± 42.68 ^a	128.96 ± 35.64 ^a
F			33.528	24.683
P			0.000	0.000

表5 各组小鼠肝脏Fe、MDA、ROS及4-HNE水平比较

组别	n	给药剂量/(g/kg)	TC/(μ mol/gprot)	TG/(μ mol/gprot)
正常组	10		39.99 ± 8.82	20.71 ± 4.05
模型组	10		74.71 ± 13.59 ^a	90.37 ± 10.12 ^a
SFJB组	10	0.04	48.39 ± 13.43 ^a	35.55 ± 6.90 ^a
LGZG低剂量组	10	3.70	67.44 ± 12.40	77.21 ± 9.90
LGZG中剂量组	10	7.40	60.53 ± 12.72 ^c	63.38 ± 10.67 ^c
LGZG高剂量组	10	14.80	55.71 ± 11.91 ^a	56.6 ± 13.69 ^a
F			20.265	140.157
P			0.000	0.000

注:与正常组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

3.3 病理改变 HE染色显示,正常组小鼠肝脏结构清晰,肝板排列有序;模型组小鼠肝组织出现明显的肝细胞索排列异常,肝细胞内部出现脂肪空泡,部分区域还伴有小叶炎症和气球样变;SFJB组小鼠肝细胞结构较模型组明显改善,脂肪变性及气球样变减轻,炎症细胞浸润程度下降;LGZG低剂量组小鼠肝细胞脂肪空泡仍可见,炎症反应较模型组略有缓解。LGZG中剂量组和LGZG高剂量组小鼠肝结构较为完整,脂肪变性及炎症程度明显减轻,仅见少量肝细胞轻度气球样变(见图1)。模型组小鼠NAS高于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠NAS均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表6)

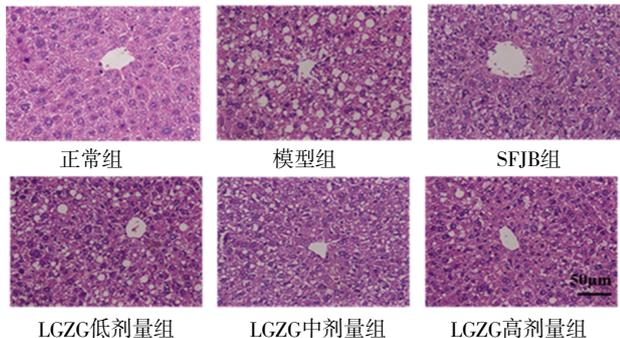


图1 各组小鼠肝组织HE染色 ($\times 200$)

油红O染色显示,正常组小鼠肝组织几乎未见橘红色脂滴沉积,肝细胞结构完整;模型组小鼠肝细胞内可见大量橘红

色脂滴弥漫分布,细胞核被明显挤压至边缘,提示严重脂肪变性。与模型组比较,SFJB组小鼠肝组织内脂滴数量明显减少,脂质沉积程度较模型组显著改善。LGZG低剂量组小鼠仍可见部分肝细胞内脂滴聚集,但总体较模型组有所减轻。LGZG中剂量组和LGZG高剂量组小鼠肝细胞脂滴分布明显减少,仅见少量散在脂滴(见图2)。模型组小鼠AOD高于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠AOD均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表6)

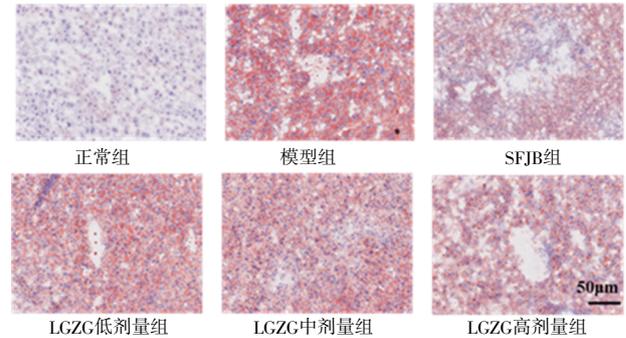


图2 各组小鼠肝组织油红O染色 ($\times 200$)

表6 各组小鼠NAS及AOD比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量/(g/kg)	NAS/分	AOD
正常组	10		0.00 ± 0.00	10.66 ± 1.00
模型组	10		6.60 ± 0.92 ^a	193.12 ± 53.97 ^a
SFJB组	10	0.04	4.40 ± 1.20 ^c	91.77 ± 42.75 ^c
LGZG低剂量组	10	3.70	5.60 ± 1.11	167.21 ± 46.38
LGZG中剂量组	10	7.40	5.20 ± 1.47 ^b	140.92 ± 31.91 ^b
LGZG高剂量组	10	14.80	4.80 ± 1.54 ^c	120.94 ± 49.20 ^c
F			37.865	37.274
P			0.000	0.000

注:与正常组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

3.4 各组小鼠肝脏Fe、MDA、ROS及4-HNE水平比较 模型组小鼠肝脏Fe、MDA、ROS及4-HNE水平高于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠肝脏Fe、MDA、ROS及4-HNE水平均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表7)

表7 各组小鼠肝脏Fe、MDA、ROS及4-HNE水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量/(g/kg)	Fe/(μ g/gprot)	MDA/(nmol/mgprot)	ROS	4-HNE/(pg/mgprot)
正常组	10		94.41 ± 12.85	1.96 ± 0.4	1.00 ± 0.12	71.09 ± 12.29
模型组	10		232.28 ± 24.83 ^a	6.02 ± 1.03 ^a	2.15 ± 0.36 ^a	177.00 ± 21.16 ^a
SFJB组	10	0.04	175.98 ± 32.88 ^b	2.95 ± 0.72 ^b	1.44 ± 0.27 ^b	99.56 ± 10.27 ^b
LGZG低剂量组	10	3.70	217.42 ± 27.83	5.63 ± 0.95	1.83 ± 0.23 ^a	155.44 ± 30.23
LGZG中剂量组	10	7.40	197.58 ± 26.03 ^b	4.90 ± 1.06 ^c	1.74 ± 0.31 ^a	140.05 ± 20.67 ^b
LGZG高剂量组	10	14.80	189.85 ± 22.48 ^b	4.33 ± 1.19 ^b	1.64 ± 0.25 ^b	130.88 ± 28.74 ^b
F			71.732	59.941	46.810	32.431
P			0.000	0.000	0.000	0.000

注:与正常组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

3.5 各组小鼠肝组织铁死亡相关蛋白及基因表达比较

3.5.1 各组小鼠肝组织ACSL4、Transferrin、IREB2、Fth蛋白相对表达量比较 模型组小鼠肝组织ACSL4、Transferrin、IREB2蛋白相对表达量高于正常组($P<0.01$),Fth蛋白相对表达量低于正常组($P<0.01$);SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组

小鼠肝组织ACSL4、Transferrin、IREB2蛋白相对表达量均低于模型组，Fth水平蛋白相对表达量均高于模型组，差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见图3、表8)

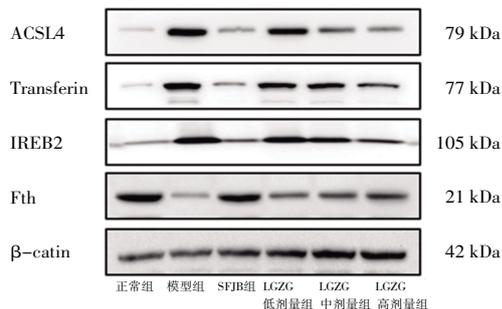


图3 各组小鼠肝组织 ACSL4、Transferrin、IREB2、FTH 蛋白表达 Western blotting 图

表8 各组小鼠肝脏组织 ACSL4、Transferrin、IREB2、Fth 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量/(g/kg)	ACSL4	Transferrin	IREB2	Fth
正常组	10		1.00±0.24	1.00±0.45	1.00±0.15	1.00±0.09
模型组	10		6.10±0.62 ^a	11.09±0.94 ^a	3.88±0.27 ^a	0.35±0.05 ^a
SFJB组	10	0.04	1.73±0.2 ^b	2.32±0.37 ^b	1.06±0.12 ^b	0.76±0.06 ^b
LGZG低剂量组	10	3.70	4.74±0.2 ^c	8.10±0.45 ^b	2.72±0.11 ^b	0.39±0.04
LGZG中剂量组	10	7.40	2.29±0.24 ^b	7.32±0.68 ^b	2.02±0.21 ^b	0.45±0.02 ^c
LGZG高剂量组	10	14.80	1.54±0.22 ^b	4.16±0.66 ^b	1.41±0.17 ^b	0.53±0.07 ^c
F			42.821	74.811	74.831	14.422
P			0.000	0.000	0.000	0.000

注:与正常组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

3.5.2 各组小鼠肝组织ACSL4 mRNA、Trf mRNA、IREB2 mRNA、Fth mRNA相对表达量比较 模型组小鼠肝组织ACSL4 mRNA、Trf mRNA、IREB2 mRNA相对表达量高于正常组($P<0.01$)，Fth mRNA相对表达量低于正常组($P<0.01$)；SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠肝组织ACSL4 mRNA、Trf mRNA、IREB2 mRNA相对表达量均低于模型组，Fth mRNA相对表达量均高于模型组，差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表9)

表9 各组小鼠肝脏组织 ACSL4 mRNA、Trf mRNA、IREB2 mRNA、Fth mRNA 相对表达量 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量/(g/kg)	ACSL4 mRNA	Trf mRNA	IREB2 mRNA	Fth mRNA
正常组	10		1.00±0.04	1.00±0.05	1.00±0.04	1.00±0.04
模型组	10		2.01±0.08 ^a	1.89±0.07 ^a	1.88±0.06 ^a	0.68±0.03 ^a
SFJB组	10	0.04	1.30±0.05 ^b	1.33±0.05 ^b	1.37±0.04 ^b	0.89±0.02 ^b
LGZG低剂量组	10	3.70	1.90±0.07	1.70±0.09	1.72±0.09	0.72±0.03
LGZG中剂量组	10	7.40	1.74±0.07 ^c	1.62±0.06 ^c	1.58±0.10 ^c	0.81±0.03 ^c
LGZG高剂量组	10	14.80	1.63±0.06 ^b	1.49±0.08 ^b	1.51±0.05 ^b	0.87±0.03 ^b
F			47.322	15.321	25.625	5.962
P			0.000	0.000	0.000	0.005

注:与正常组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

3.6 各组小鼠肝组织Hepcidin-Ferroportin通路相关蛋白及基因表达比较

3.6.1 各组小鼠肝组织Hepcidin、Ferroportin蛋白相对表达量比较 模型组小鼠肝组织Hepcidin蛋白相对表达量高于正常组($P<0.01$)，Ferroportin蛋白相对表达量低于正常组($P<0.01$)；

SFJB组、LGZG低剂量组、LGZG中剂量组及LGZG高剂量组小鼠肝组织Hepcidin蛋白相对表达量均低于模型组，Ferroportin蛋白相对表达量均高于模型组，差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见图4、表10)

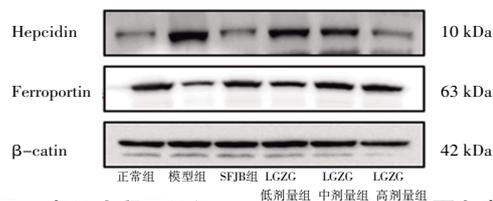


图4 各组小鼠肝组织 Hepcidin、Ferroportin 蛋白表达 Western blotting 图

表10 各组小鼠肝组织 Hepcidin、Ferroportin 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量/(g/kg)	Hepcidin	Ferroportin
正常组	10		1.00±0.07	1.00±0.08
模型组	10		1.66±0.06 ^a	0.34±0.05 ^a
SFJB组	10	0.04	0.96±0.07 ^b	0.78±0.12 ^b
LGZG低剂量组	10	3.70	1.48±0.06 ^c	0.57±0.06 ^b
LGZG中剂量组	10	7.40	1.21±0.11 ^b	0.90±0.03 ^b
LGZG高剂量组	10	14.80	1.09±0.11 ^b	1.12±0.11 ^b
F			5.633	27.842
P			0.006	1.000

注:与正常组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

3.6.2 各组小鼠肝组织Hamp mRNA、Slc40a1 mRNA相对表达量比较 模型组小鼠肝组织Hamp mRNA相对表达量高于正常组($P<0.01$)，Slc40a1 mRNA相对表达量低于正常组($P<0.01$)；SFJB组、LGZG中剂量组及LGZG高剂量组小鼠肝组织Hamp mRNA相对表达量均低于模型组，Slc40a1 mRNA相对表达量均高于模型组，差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见表11)

表11 各组小鼠肝组织 Hamp mRNA、Slc40a1 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量/(g/kg)	Hamp mRNA	Slc40a1 mRNA
正常组	10		1.00±0.04	1.00±0.04
模型组	10		1.95±0.08 ^a	0.68±0.02 ^a
SFJB组	10	0.04	1.34±0.06 ^b	0.87±0.03 ^b
LGZG低剂量组	10	3.70	1.75±0.09	0.75±0.03
LGZG中剂量组	10	7.40	1.69±0.03 ^c	0.79±0.04 ^c
LGZG高剂量组	10	14.80	1.58±0.04 ^b	0.84±0.04 ^b
F			65.523	6.357
P			0.000	0.004

注:与正常组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

4 讨 论

中医学无NASH的明确记载。根据本病临床特点，NASH属于中医学中“肝癖”“胁痛”等范畴。《难经·五十六难》云“肝之积，名曰肥气”。肥气者即为肥甘膏腻之品，脾之运化不足则肥气蓄积化为痰浊。肝主疏泄，肝脾共为升降气息之枢纽。若肝气郁结，疏泄失职，则脾气亦随之困滞，运化失常。水谷

精微不能正常输布,反化为痰浊湿邪,蓄积于肝,则为“肝癖”。痰浊瘀阻肝络,气血运行不畅,则见胁痛。苓桂术甘汤乃健脾祛湿、温阳化饮之经典方剂。方中茯苓健脾渗湿,以绝生痰之源;桂枝温阳化气,以助脾之运化;白术健脾燥湿,以增脾之运化之力;甘草调和诸药,缓急止痛。四药合用,共奏健脾祛湿、温阳化饮之效^[8]。

本研究利用MCD饮食构建NASH模型。MCD饲料会使蛋氨酸胆碱缺乏,造成极低密度脂蛋白合成及肝细胞不可逆的损伤。作为最常见的NASH动物造模方法,MCD具有造模时间短、成模率高等特点。然而,相关研究也发现,MCD诱导的NAFLD动物模型的体质量10周内会下降40%^[12]。因此,本研究结果显示的NASH小鼠体质量降低可能与造模方法有关。模型组小鼠肝指数高于正常组,且血清ALT、AST水平及肝脏TC、TG水平也高于正常组。肝脏组织切片HE和油红O染色显示,模型组小鼠的肝脏存在明显的脂肪变性现象。同时LGZG能显著改善NASH小鼠的肝功能异常。

脂质过氧化是细胞铁死亡过程中的一个关键标志。这一过程对细胞内的多个脂质结构构成了显著威胁,不仅能够导致细胞膜的物理特性,如流动性和通透性发生不利变化,还会对DNA和蛋白质等生物分子造成损伤,最终干扰细胞的正常生理功能^[13]。ROS作为氧化酶合成的效能产物,具有较强的氧化攻击性,可直接损伤细胞膜、细胞器及重要的蛋白信号因子,造成细胞膜和细胞膜脂质的过氧化,从而导致肝损伤加剧^[14]。4-HNE作为一种在脂质过氧化反应中生成的含氧不饱和醛类物质,通常在生物体内保持着极低的水平。然而,当生物体面临外界刺激并触发氧化应激反应时,4-HNE的浓度会显著上升^[15]。MDA作为脂质过氧化过程的最终产物,是衡量氧化应激诱导损伤及细胞受损程度的一个重要指标^[16]。本研究结果表明,LGZG可以降低NASH小鼠肝脏中Fe、MDA、ROS及4-HNE水平。LGZG可以通过降低肝脏铁沉积、抑制脂质过氧化改善NASH小鼠肝损伤。

二价铁或酯氧合酶可催化细胞膜上富含的高不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,进而触发细胞死亡过程^[17]。铁死亡被认为是NADH进展的重要因素^[18]。过量的细胞内亚铁离子可通过芬顿反应导致脂质体过氧化,引发氧化应激并改变体内营养物质的代谢,从而导致代谢紊乱并促进NADH的发展^[19]。研究表明,补充抗氧化剂可以减轻肝脏脂肪堆积引起的氧化应激和铁代谢紊乱,从而保护肝脏免受NADH相关疾病的损害^[20]。酰基辅酶A合成酶长链家族(Acyl-CoA synthetase long-chain family, ACSL)为脂质代谢中的关键酶,来源于内质网和线粒体膜。ACSL4是存在于肝脏中的一个亚型,可参与调控铁死亡^[21-22]。Transferrin过表达可使Fe²⁺或酯氧合酶驱动细胞膜上多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化,导致大量脂质过氧化物生成。Transferrin是诱导铁死亡发生的关键因素,可通过调节铁代谢和脂质过氧化反应,干预抗氧化体系相关通路,从而调控铁死亡在NASH发生发展过程中发挥正向作用^[23]。IREB2是调控铁代谢过程的关键转录因子。抑制IREB2表达后,铁代谢相关基因的表达水平得到提升,进而抑制铁死亡^[24-25]。Fth主要参与铁的释放,能促进铁蛋白团簇中的铁离子释放以满足机

体对铁的需求^[26]。本研究结果显示,SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠肝组织ACSL4、Transferrin、IREB2蛋白相对表达量均低于模型组,Fth蛋白相对表达量均高于模型组;SFJB组、LGZG中剂量组、LGZG高剂量组小鼠肝组织ACSL4 mRNA、Trf mRNA、IREB2 mRNA、Hamp mRNA相对表达量均低于模型组,Fth mRNA、Slc40a1 mRNA相对表达量均高于模型组。这表明LGZG可以通过调控铁代谢和脂质过氧化,抑制铁死亡。此外,SFJB组、LGZG低剂量组、LGZG中剂量组及LGZG高剂量组小鼠肝组织Hepcidin蛋白相对表达量均低于模型组,Ferroportin蛋白相对表达量均高于模型组;SFJB组、LGZG中剂量组及LGZG高剂量组小鼠肝脏Hamp mRNA相对表达量均低于模型组($P < 0.01$),Slc40a1 mRNA相对表达量均高于模型组。这表明LGZG对Hepcidin-Ferroportin通路具有调控作用。Hepcidin是肝细胞分泌的25肽抗菌多肽。Hepcidin为铁代谢核心调控因子,可通过与细胞膜铁输出通道蛋白Ferroportin结合,诱导其泛素化修饰及溶酶体降解,从而抑制细胞内铁释放,维持机体铁稳态^[27]。Ferroportin为跨膜12次的转运蛋白。由第3、4跨膜结构域构成的Fe²⁺-H⁺交换通道,在肠上皮细胞刷状缘负责膳食铁吸收,并在肝窦内皮细胞基底膜调控组织铁循环。Ferroportin表达水平受铁反应元件(iron responsive element,IRE)-铁调节蛋白(iron regulatory protein,IRP)系统精密调控^[28]。当Hepcidin与其特异性受体Ferroportin胞外结构域结合后,可触发E3泛素连接酶TRIM21介导的K48位多泛素化修饰,促使Ferroportin内化并靶向溶酶体降解,降低巨噬细胞中铁向血液的释放量^[29]。因此,Hepcidin与Ferroportin的相互作用对于维持机体铁稳态具有不可或缺的作用。在NASH病变过程中,Hepcidin-Ferroportin通路的失衡可导致肝细胞铁过载,并通过芬顿反应驱动脂质过氧化并诱发铁死亡。本研究发现,LGZG能调控Hepcidin-Ferroportin通路,降低Hepcidin表达,升高Ferroportin表达。

综上所述,LGZG对NASH小鼠具有治疗作用,其作用机制可能与调控Hepcidin-Ferroportin通路改善铁死亡有关。

参考文献

- [1] 赵文霞,许二平,王宪波,等.非酒精性脂肪性肝炎中医诊疗指南[J].中西医结合肝病杂志,2022,32(11):1059-1062.
- [2] ANSTEE Q M, REEVES H L, KOTSILITI E, et al. From NASH to HCC: Current concepts and future challenges[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol,2019,16(7):411-428.
- [3] HUANG D Q, EL-SERAG H B, LOOMBA R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: Trends, predictions, risk factors and prevention[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021,18(4):223-238.
- [4] 郑佳连,卢秉久,张艳.基于PI3K-Akt-mTOR通路探讨泽曲明山复方对大鼠非酒精性脂肪性肝炎模型的影响[J/OL]. 辽宁中医药大学学报,1-15[2024-03-18].<https://link.cnki.net/urlid/21.1543.R.20240318.1024.002>.
- [5] 王昕,王一帆,尚慕鸿,等.地奥心血康激活IRS-1/PI3K/Akt

- 信号通路改善非酒精性脂肪性肝炎小鼠胰岛素抵抗的实验研究[J].中国临床药理学与治疗学,2024,29(2):121-129.
- [6] 姚硕,李源,段超,等.肉桂醛调节AMPK/SREBP1c信号通路对非酒精性脂肪性肝炎小鼠肝损伤的影响[J].广州中医药大学学报,2024,41(2):438-447.
- [7] 袁亚利,毛堂友,韩海啸,等.茵陈苓桂术甘汤对非酒精性脂肪性肝病Th17/Treg细胞免疫平衡的影响[J].中国中西医结合消化杂志,2024,32(2):139-144.
- [8] 曹慧敏,孔亮,隋国媛,等.苓桂术甘汤对非酒精性脂肪肝相关肝细胞癌模型小鼠肝脂肪酸代谢重编程的影响[J].中医杂志,2023,64(13):1366-1374.
- [9] MRIDHA A R, WREE A, ROBERTSON A A B, et al. NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice[J]. J Hepatol, 2017, 66(5): 1037-1046.
- [10] ZHANG Z C, JI Z T, HE J B, et al. Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha 2 exacerbates NASH progression by regulating peroxiredoxin 1-related inflammation and lipophagy[J]. Hepatology, 2021, 74(6): 3110-3126.
- [11] KLEINERD E, BRUNTE M, VAN NATTA M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2005, 41(6): 1313-1321.
- [12] SANCHES S C L, RAMALHO L N Z, AUGUSTO M J, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: A search for factual animal models[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 574832.
- [13] 李家权,许锦,谭子富,等.黄芩苷通过调控铁死亡减轻H9c2细胞缺氧复氧损伤及其机制研究[J].中医药导报, 2025, 31(2): 13-18.
- [14] MA Z H, ZHANG Y M, LI Q C, et al. Resveratrol improves alcoholic fatty liver disease by downregulating HIF-1 α expression and mitochondrial ROS production[J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183426.
- [15] 钱倩宇,应娜,杨贞,等.丹参酮II A通过激活PPAR α 减轻4-HNE诱导的肝细胞损伤的机制研究[J].中国中药杂志, 2019, 44(9): 1862-1868.
- [16] 唐益文,王雄,周艳艳,等.益气活血托毒方对慢性非细菌性前列腺炎大鼠ROS、GSH-Px、MDA的影响[J].中医药导报, 2023, 29(7): 24-28.
- [17] JIANG X J, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: Mechanisms, biology and role in disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(4): 266-282.
- [18] GAO H, JIN Z M, BANDYOPADHYAY G, et al. Aberrant iron distribution via hepatocyte-stellate cell axis drives liver lipogenesis and fibrosis[J]. Cell Metab, 2022, 34(8): 1201-1213.e5.
- [19] ILLÉS E, PATRA S G, MARKS V, et al. The Fe(II) (citrate) Fenton reaction under physiological conditions[J]. J Inorg Biochem, 2020, 206: 111018.
- [20] BARRERA C, VALENZUELA R, RINCÓN M A, et al. Iron-induced derangement in hepatic Δ -5 and Δ -6 desaturation capacity and fatty acid profile leading to steatosis: Impact on extrahepatic tissues and prevention by antioxidant-rich extra virgin olive oil [J]. Prostaglandins LeukotEssent Fatty Acids, 2020, 153: 102058.
- [21] QUAN J, BODE A M, LUO X J. ACSL family: The regulatory mechanisms and therapeutic implications in cancer[J]. Eur J Pharmacol, 2021, 909: 174397.
- [22] YU Y Y, JIANG L, WANG H, et al. Hepatic transferrin plays a role in systemic iron homeostasis and liver ferroptosis[J]. Blood, 2020, 136(6): 726-739.
- [23] LI Y J, JIN C, SHEN M, et al. Iron regulatory protein 2 is required for artemether-mediated anti-hepatic fibrosis through ferroptosis pathway[J]. Free Radic Biol Med, 2020, 160: 845-859.
- [24] WANG C, WANG X, SONG G Y, et al. A high-fructose diet in rats induces systemic iron deficiency and hepatic iron overload by an inflammation mechanism[J]. J Food Biochem, 2021, 45(1): e13578.
- [25] MORRIS G, BERK M, CARVALHO A F, et al. Why should neuroscientists worry about iron The emerging role of ferroptosis in the pathophysiology of neurodegenerative diseases[J]. Behav Brain Res, 2018, 341: 154-175.
- [26] NEMETH E, GANZ T. Heparin and iron in health and disease[J]. Annu Rev Med, 2023, 74: 261-277.
- [27] GALY B, CONRAD M, MUCKENTHALER M. Mechanisms controlling cellular and systemic iron homeostasis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25(2): 133-155.
- [28] CAMASCHELLA C, NAI A, SILVESTRI L. Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era[J]. Haematologica, 2020, 105(2): 260-272.
- [29] 赵晋英,李艳伟.铁调素在铁稳态中的作用及其靶向药物开发[J].邵阳学院学报(自然科学版), 2018, 15(5): 78-92.

(收稿日期:2025-03-25 编辑:蒋凯彪)