

本文引文格式:唐运妮,陈敏华,幸尚平,等. 基于斑马鱼模型和网络药理学探讨积雪草酸对 MASLD 的作用及潜在机制[J]. 右江民族医学院学报, 2026, 48(4): 606-613.

【中医药现代研究】

基于斑马鱼模型和网络药理学探讨积雪 草酸对 MASLD 的作用及潜在机制

唐运妮¹, 陈敏华², 幸尚平¹, 黄菊¹, 张校熔¹, 杨金妮¹, 韦智译¹, 齐琦¹, 何萍¹

(1. 广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021;

2. 广西壮族自治区桂东人民医院, 广西 梧州 543001)

摘要:目的 探究积雪草酸(asiatic acid, AA)对代谢功能障碍相关脂肪性肝病(metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, MASLD)的作用及潜在机制。方法 采用高脂高胆固醇饲料喂养建立斑马鱼幼鱼 MASLD 模型,通过肝脏生化指标、尼罗红染色及肝脏 HE 病理改变评价 AA 的干预作用;运用网络药理学结合分子对接技术预测潜在作用靶点及通路,并通过 qRT-PCR 对核心靶点基因表达进行验证。结果 AA 剂量依赖性降低斑马鱼肝脏甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C)、谷丙转氨酶(ALT)及谷草转氨酶(AST)水平,同时升高高密度脂蛋白(HDL-C)水平(与模型组相比, $P < 0.05$, $P < 0.01$)。尼罗红染色结果显示,AA 可减轻肝脏脂质沉积,HE 染色结果表明 AA 能改善肝脏脂肪变性等病理损伤。网络药理学分析共得到 AA 与 MASLD 交集靶点 59 个,排名前 5 的核心靶点包括白细胞介素 6(IL-6)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、雌激素受体 α (ESR1)、前列腺素内过氧化物合酶 2(PTGS2)及过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPARA),主要涉及 PPAR、胰岛素抵抗、IL-17 等信号通路。分子对接结果显示 AA 与上述核心靶点具有较好的结合能力。qRT-PCR 结果表明,高剂量 AA 可有效调节 MASLD 斑马鱼体内核心靶点基因的 mRNA 表达水平(与模型组比较, $P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 AA 具有改善 MASLD 的作用,其机制可能与调控 IL-6、PPARG、ESR1、PTGS2、PPARA 等靶点有关。

关键词:积雪草酸;代谢相关脂肪性肝病;斑马鱼;网络药理学;分子对接

中图分类号:R972.6

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2026)04-0606-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2026.04.017

Effect and potential mechanism of asiatic acid on metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease based on zebrafish model and network pharmacology

TANG Yunni¹, CHEN Minhua², XING Shangping¹, HUANG Ju¹, ZHANG Xiaorong¹,
YANG Jinni¹, WEI Zhiyi¹, QI Qi¹, HE Ping¹

(1. School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China;

2. Guidong People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Wuzhou 543001, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of asiatic acid (AA) on metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) and explore its potential mechanism. **Methods** A zebrafish larval model of MASLD was established by feeding a high-fat and high-cholesterol diet. The intervention effect of AA on MASLD was evaluated by assessing hepatic biochemical indicators, Nile red staining, and histopathological changes via hematoxylin-eosin (HE) staining. Network pharmacology combined with molecular docking was

基金项目:国家自然科学基金资助项目(82460718);广西重大专项计划项目(桂科 JF2503980037);广西医科大学大学生创新创业训练计划项目(202510598021)

第一作者:唐运妮,硕士,研究方向:心脑血管药理学, E-mail:1594546551@qq.com

通讯作者:何萍,博士,教授,研究方向:中药药理学, E-mail:hpnngxmu@163.com

employed to predict potential targets and signaling pathways, and the mRNA expression levels of core target genes were validated by qRT-PCR. **Results** AA dose-dependently reduced the levels of triglycerides (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) in zebrafish liver, while increasing high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels (compared with the model group, $P < 0.05$, $P < 0.01$). Nile red staining showed that AA alleviated hepatic lipid deposition, and HE staining indicated that AA ameliorated hepatic steatosis and other pathological lesions. Network pharmacology identified 59 intersection targets between AA and MASLD. The top five core targets were interleukin-6 (IL-6), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG), estrogen receptor alpha (ESR1), prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2), and peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARA), and the related signaling pathways were PPAR, insulin resistance, and IL-17. Molecular docking revealed that AA exhibited good binding affinity with these core targets. qRT-PCR results demonstrated that high-dose AA effectively regulated the mRNA expression levels of these core target genes in MASLD zebrafish (compared with the model group, $P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** AA exerts a therapeutic effect on MASLD, and its mechanism may be related to the regulation of targets such as IL-6, PPARG, ESR1, PTGS2, and PPARA.

Key words: asiatic acid; metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease; zebrafish; network pharmacology; molecular docking

代谢相关脂肪性肝病 (metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, MASLD) 已成为全球最常见慢性肝病, 并可能进展至肝纤维化、肝硬化甚至肝细胞癌, 中国患病率已接近 30%, 是我国严峻的公共卫生问题^[1]。目前, MASLD 尚无完全明晰的治疗方法, 高效、安全、经济的抗 MASLD 药物研发仍迫在眉睫^[2]。积雪草酸 (asiatic acid, AA) 是从壮药积雪草中分离出来的活性较高的乌苏烷型五环三萜酸, 具有抗炎、抗氧化、调脂、护肝、抗肿瘤和免疫调节等多种药理学作用^[3]。有研究显示, AA 能减少肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α) 和白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 等炎性细胞因子释放, 抑制参与脂质积累的途径, 降低氧化应激, 减轻肝细胞的损伤, 改善肝脏的代谢功能^[4-5], 提示 AA 可能对 MASLD 具有潜在的治疗价值, 但其保护作用及机制仍有待进一步阐明。

斑马鱼作为一种新型模式生物, 具备繁殖快、实验周期短、样本量易扩大、饲养成本低等优势; 斑马鱼肝脏功能发育完成于 5 d 之内, 肝脏组织与哺乳动物类似、与人类基因高度同源, 其幼鱼模型可用作肝脏疾病药物初步研究及快速筛选^[6]。本研究拟采用高脂高胆固醇饲料诱导建立斑马鱼幼鱼 MASLD 模型^[7], 初步评价 AA 对 MASLD 的干预作用, 并基于网络药理学和分析对接技术探讨其可能作用靶点和通路, 最后运用 qRT-PCR 技术对核心靶点进行验证, 为进一步深入研究 AA 改善 MASLD 的作用及机制提供理论依据和实验基础。

1 材料与方法

1.1 动物 野生型 AB 品系斑马鱼购自广西新桂环

保科技集团有限公司, 饲养于广西医科大学药学院斑马鱼实验平台, 水温 28.5 °C, pH 7.0~8.0, 14 h 光照/10 h 黑暗周期。待斑马鱼交配产卵后, 收集受精卵置于恒温培养箱内培养, 在受精后 5 d (5 days post-fertilization, 5dpf) 阶段, 挑选健康的斑马鱼幼鱼用于后续实验。

1.2 材料与试剂 AA 标准品购自成都普瑞法科技开发有限公司, 纯度 $\geq 98\%$ (HPLC), 用 0.4% 的二甲基亚砜 (DMSO) 配制成 25 mg/mL、12.5 mg/mL 及 6.25 mg/mL 母液备用, 实验中按 1:250 比例加入斑马鱼养殖液中稀释成所需终浓度; DMSO 购自上海索莱宝生物科技有限公司, 用蒸馏水配制成 0.4% 母液备用, 实验中按 1:250 比例加入斑马鱼养殖液中稀释成所需浓度; 三卡因、蛋黄粉购自上海吉至生化科技有限公司; 胆固醇购自广州硕谱生物科技有限公司; 斑马鱼常规小鱼饲料购自上海海圣生物实验设备有限公司; 甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、高密度脂蛋白 (HDL-C)、谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所有限公司; 尼罗红染色试剂盒购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; AxyPrep 总 RNA 小量制备试剂盒购自爱思进生物技术 (杭州) 有限公司; PrimeScript RT reagent kit with gDNA eraser (Perfect Real Time), TB Green Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) 购自宝生物工程 (大连) 有限公司。

1.3 仪器 实验级水生模式斑马鱼养殖设备 (型号 ESEN-AW-DU5, 北京爱生科技发展有限公司)、荧光正置显微镜 (型号 BX53, 奥林巴斯株式会社)、多功能酶标仪 (型号 SynergyH1, 美国伯腾仪器有限公司)、

微量紫外—可见光分光光度计(型号 NanoDrop™ OneC,赛默飞世尔科技中国有限公司)、实时荧光定量 PCR 仪器(型号 CFX Touch,美国 Bio-Rad 有限公司)。

1.4 AA 对 MASLD 斑马鱼的影响

1.4.1 AA 剂量设置依据 预实验采用斑马鱼幼鱼进行 AA 最大耐受浓度筛选。在 50~250 mg/L 浓度范围内,斑马鱼存活率呈剂量—时间依赖性降低。其中终浓度为 100 mg/L 的 AA 处理 24 h、48 h 和 72 h 时,斑马鱼幼鱼存活率均接近 100%,故确定 100 mg/L 为最大耐受浓度。据此,本研究将 100 mg/L、50 mg/L、25 mg/L 分别设为高、中、低剂量进行后续实验。

1.4.2 分组与给药 将 5 dhf 的野生型 AB 品系斑马鱼随机分为 5 组:对照组、模型组及 AA 高剂量组(100 mg/L)、中剂量组(50 mg/L)、低剂量组(25 mg/L),每组 200 条。对照组喂食常规饲料,模型组和 AA 组饲喂 5%高脂高胆固醇饲料,每日喂食量按每条幼鱼 0.3 mg 计算。适应性喂养 5 d 后,采用相应终浓度 AA 浸泡给药 10 d,对照组及模型组给予终浓度 0.0016% DMSO 进行同期对照,给药结束后收集斑马鱼进行指标检测。

1.4.3 指标检测 ①肝脏生化指标:每组 150 条斑马鱼幼鱼,暴露在 0.2%三卡因溶液中至安乐死,去除头部(眼后位置)和尾部(尾鳍前端),保留含肝脏的躯干中段。每组收集 150 条斑马鱼幼鱼,每 50 条幼鱼视为一个样本,称定质量后按 1:9 比例加入无水乙醇,冰水浴条件下机械匀浆,4℃、2 500 r/min 离心 10 min 后取上清液,按照试剂盒说明书分别测定 TG、TC、LDL-C、HDL-C、ALT、AST 含量;②尼罗红染色检测:每组 10 条斑马鱼幼鱼,置于 0.5 μg/mL 尼罗红工作液中避光孵育 60 min 后,PBS 缓冲液漂洗去除残余染液,0.02%三卡因麻醉后在荧光显微镜(激发/发射波长:552/636 nm)下,相同曝光时间和增益条件下采集完整肝区荧光图像,导入 ImageJ 软件,对图像背景进行校正后,测量整个肝区的平均荧光强度,以相对于对照组的平均荧光强度的倍数变化表示各样本相对荧光强度值;③肝脏组织病理学评价:每组 10 条斑马鱼幼鱼,4%多聚甲醛固定,乙醇逐步脱水,石蜡包埋,切片进行苏木素—伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,显微镜下观察肝组织病理改变^[7]。

1.5 网络药理学预测分析

1.5.1 药物、疾病靶点的获取及交集 在 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)进行检索,保存 AA 的标准 SMILES 并导入 Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetpredic->

tion.ch/),SEA 数据库(<https://sea.bkslab.org>)及 TargetNet 数据库(<https://targetnet.scbdd.com/>),经 UniProtKB 数据库(<https://www.uniprot.org/uniprotkb>)规范统一名称,去除重复值和非人类基因后,得到药物靶点。以“metabolic dysfunction-associated fatty liver disease”及“non-alcoholic fatty liver disease”关键词在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org>)、TTD 数据库(<https://ttd.idrblab.cn>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org/search/advanced/geneMap>),合并去除重复项得到疾病靶点。通过微生信数据处理平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)得到药物与疾病的交集靶点。

1.5.2 交集靶点的蛋白质相互作用(PPI)网络构建

将交集靶点导入 Cytoscape 3.10.4 软件进行网络拓扑学分析筛选核心靶点,根据各节点的中心度值(Degree)的大小将 PPI 网络图可视化。

1.5.3 交集靶点的富集分析 通过 DAVID 数据库(<https://davidbioinformatics.nih.gov/>)对交集靶点进行基因本体论(GO)功能富集分析及京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,并使用微生信数据处理平台对富集结果进行可视化。

1.6 分子对接 通过 PubChem 数据库(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取 AA 的 2D 结构,使用 ChemOffice 软件转换为 3D 结构。从 RCSB PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)中下载核心靶蛋白的 3D 结构,通过 PyMOL 2.5.7 去除配体和水分子。采用 AutoDock Vina 1.5.6 软件进行分子对接。利用 Discovery Studio 2019 软件进行可视化测试化合物与关键残基之间的相互作用 2D 图及 3D 分析图。

1.7 核心靶点基因表达水平检测 结合斑马鱼肝脏生化、尼罗红、肝脏 HE 等实验结果表明 AA(100 mg/L)在改善斑马鱼动物病理指标上展现出最优药效,为明确其治疗作用下的关键分子事件,本研究选取对照组、模型组及 AA 高剂量组(100 mg/L)的样本进行核心靶点基因表达水平的定量分析。每组收集 30 条斑马鱼幼鱼,每 10 条幼鱼视为一个样本,按照试剂盒说明书提取总 RNA,检测 RNA 质量和浓度,使用逆转录试剂盒合成 cDNA,进行 qRT-PCR 分析。以 β -actin 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 IL-6、PPARG、ESR1、PTGS2、PPARA 等核心靶点基因表达量。引物由上海生工生物工程有限公司合成,序列设计如下:IL-6 上游:5'-TCAACTTCTCCAGCGTGATG-3',下游:5'-TCTTTCCCTCTTTTCCTCCTG-3'; PPARG 上游:5'-CAACTGCAGATACATGCCGC-3',下游:5'-TGGTAGCTGTGGAAGAAGCG-3'; ESR1 上游:

5'-ACTCTCACCCATGTACCCTAAGG-3', 下游: 5'-CGGGTAGTATCCCAGTGAAGC-3'; *PTGS2* 上游: 5'-TTCTTCGCCAGCATTTCTCTCAC-3', 下游: 5'-TTTGTGTTGAACCTCCAGCGTCTC-3'; *PPARA* 上游: 5'-CGTCGTCAGGTGTTTACGGT-3', 5'-AGGCACTTCTGGAATCGACA-3'; *βactin* 上游: 5'-CACACCGTGCCCATCTATGA-3', 下游: 5'-ATTTCTCTTTTCGGCCGTGGT-3'。

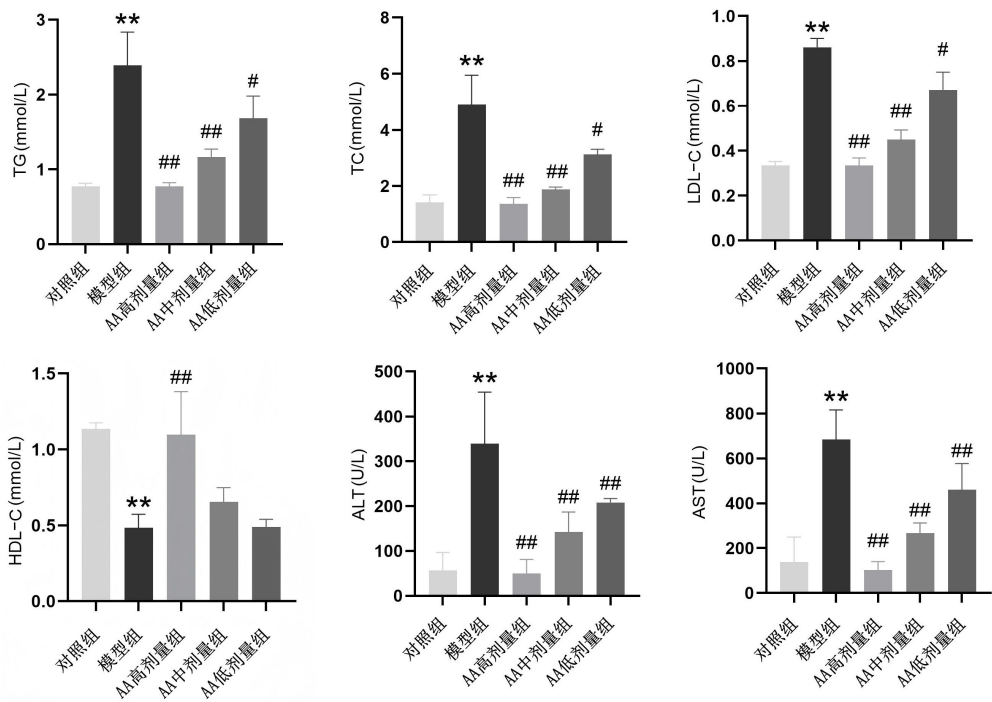
1.8 统计学方法 采用 SPSS 24.0 进行统计分析, 正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 方差齐时, 选用 LSD-*t* 检验进行两两比较; 若方差不齐, 则采用 Tamhane's T_2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意

义。

2 结果

2.1 AA 对 MASLD 斑马鱼的影响

2.1.1 对肝脏生化指标的影响 模型组斑马鱼幼鱼肝脏组织 TG、TC、LDL-C 含量显著增加而 HDL-C 水平显著降低(与对照组相比, $P < 0.01$)。AA 在 25~100 mg/L 范围内能浓度依赖性地降低 TG、TC 及 LDL-C 含量(与模型组相比, $P < 0.05$, $P < 0.01$); 同时 AA 可升高 HDL-C 水平(高浓度 100 mg/L AA 时与模型组相比 $P < 0.01$)。模型组 ALT、AST 水平均显著升高(与对照组相比, $P < 0.01$), 而 AA 各剂量组的 ALT、AST 均显著降低(与模型组相比, $P < 0.01$)。结果见图 1。



注: 与对照组相比, ** $P < 0.01$; 与模型组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, $n = 3$ 。

图 1 AA 对斑马鱼幼鱼肝脏生化指标的影响

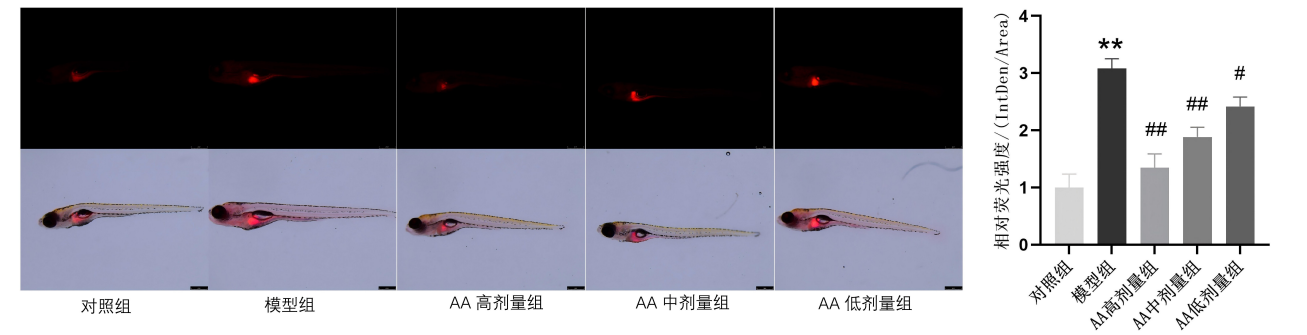
2.1.2 对肝脏脂质沉积的影响 经尼罗红染色后, MASLD 斑马鱼幼鱼肝脏可观察到明显的橘红色荧光信号, 肝脏荧光区域明显增大(与对照组相比, $P < 0.01$); AA 各剂量组斑马鱼肝脏区域荧光强度显著降低(与模型组相比, $P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果见图 2。

2.1.3 对肝脏病理的影响 肝脏 HE 病理染色结果如图 3 所示。对照组肝组织结构规则, 肝细胞形态完整。模型组斑马鱼幼鱼肝脏出现显著脂肪变性(肝细胞脂肪堆积、气球样变), 并伴有炎症浸润和坏死灶, AA 各剂量组显著改善肝脏结构, 使肝细胞排列有序、核形态规整。

2.2 网络药理学预测结果

2.2.1 交集靶点的获取 共获得 AA 药物靶点 160 个, 疾病靶点 1 685 个, 药物与疾病交集靶点 59 个, 即为 AA 抗 MASLD 的潜在作用靶点。

2.2.2 交集靶点的 PPI 网络拓扑分析 PPI 网络拓扑分析度值排名前 5 的靶点分别为白细胞介素-6(IL-6)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、雌激素受体 α (ESR1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPARA), 见图 4, 其 Degree 值依次为 40、34、28、27 和 25。



注:与对照组相比, ** $P < 0.01$;与模型组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, $n = 10$ 。
图 2 斑马鱼幼鱼尼罗红染色结果($\times 16$)

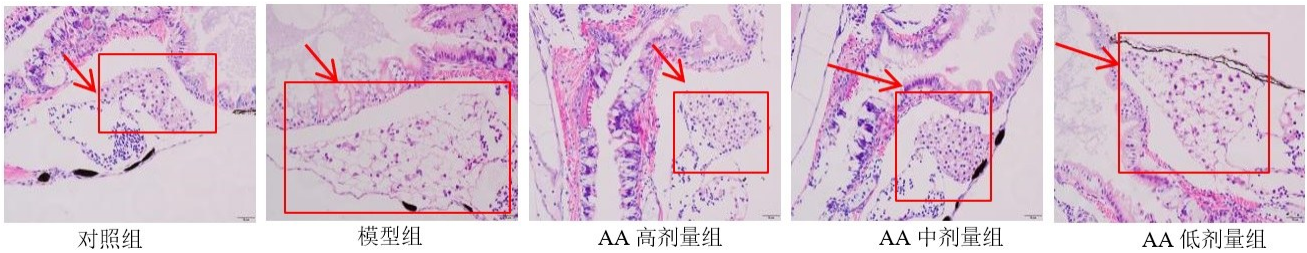


图 3 AA 对斑马鱼幼鱼肝脏 HE 染色病理的影响($n = 10, \times 200$)

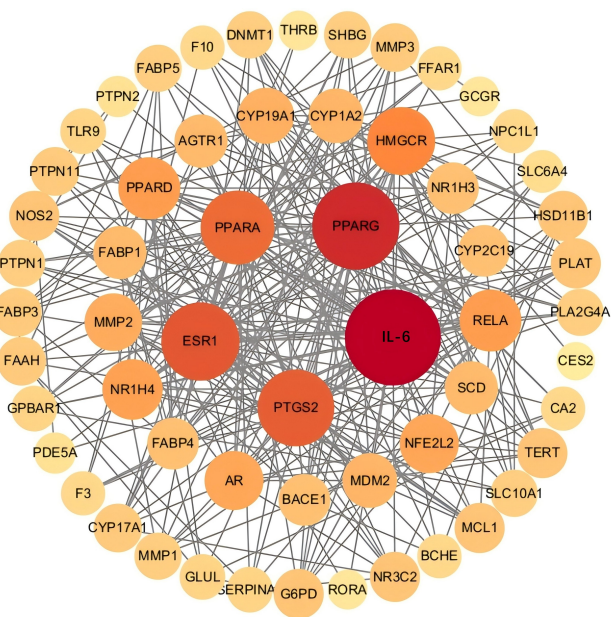


图 4 靶点 PPI 网络

2.2.3 交集靶点的富集分析 GO 功能富集分析结果如图 5 所示,其中生物过程(BP)主要涉及对脂肪酸的反应、核受体介导的类固醇激素信号通路、细胞群体增殖的负调控、RNA 聚合酶 II 对转录的正向调控、脂肪酸转运等过程;细胞功能(CC)主要包括内质网腔、内质网、胞外区域、细胞内膜结合细胞器、细胞外空间等;分子功能(MF)主要涉及内肽酶活性、长链脂肪酸跨膜转运蛋白活性、杂环化合物结合、酶结合、转录共激活因子结合等过程。KEGG 通路富集分析结果如图 6 所示,主要与 PPAR、胰岛素抵抗、IL-17 等信号通路

存在关联,这些通路广泛覆盖炎症、代谢紊乱及免疫调控。
2.3 分子对接结果 将 AA 与筛选出的 5 个核心靶点(IL-6、PPARG、ESR1、PTGS2、PPARA)编码的蛋白进行分子对接,见表 1、图 7。一般来说当结合能 < -5.0 kcal/mol 表明两者具有较好的结合活性, < -7.0 kcal/mol表明有强烈的结合活性,结合能越低则说明两者结合活性越强,亲和力越高,构象也越稳定。该结果显示结合能范围为 -8.4 kcal/mol ~ -6.9 kcal/mol,提示 AA 与靶蛋白均展现了良好结合性能。

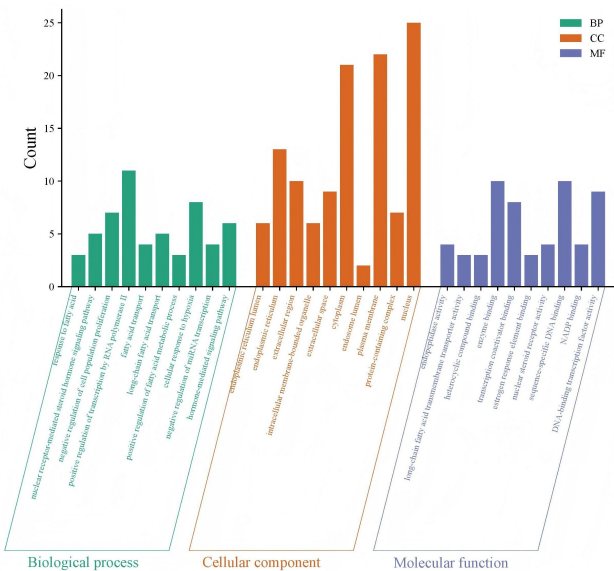


图 5 GO 功能富集分析

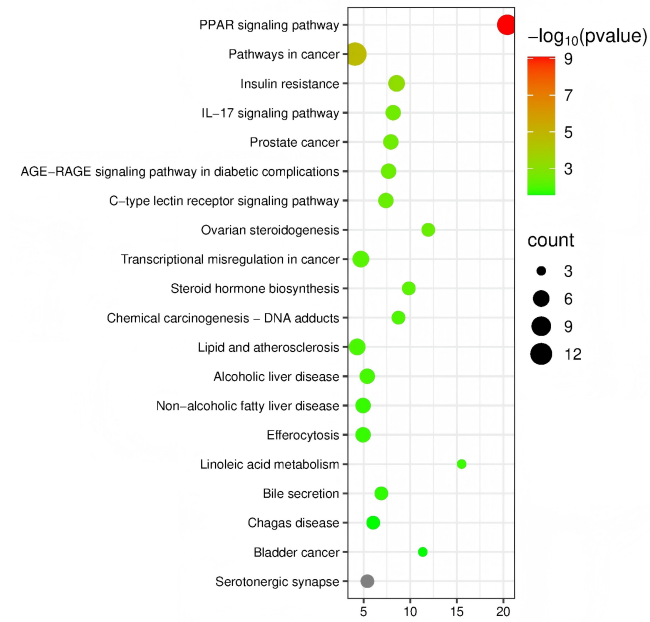


图 6 KEGG 通路富集分析

表 1 AA 与核心靶点分子对接结合能

核心靶点	结合能/(kcal · mol ⁻¹)
IL-6	-6.9
PPARG	-8.1
ESR1	-8.3
PTGS2	-8.4
PPARA	-6.9

2.4 AA 对斑马鱼核心靶点基因表达的影响 如图 8 所示,与对照组相比,模型组 *IL-6*、*ESR1*、*PTGS2* 基因 mRNA 的相对表达量增加,*PPARG*、*PPARA* 基因 mRNA 表达减少 ($P < 0.01$);与模型组相比,AA 高剂量组 *IL-6*、*ESR1*、*PTGS2* 基因 mRNA 表达量降低,*PPARG*、*PPARA* 基因 mRNA 表达增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

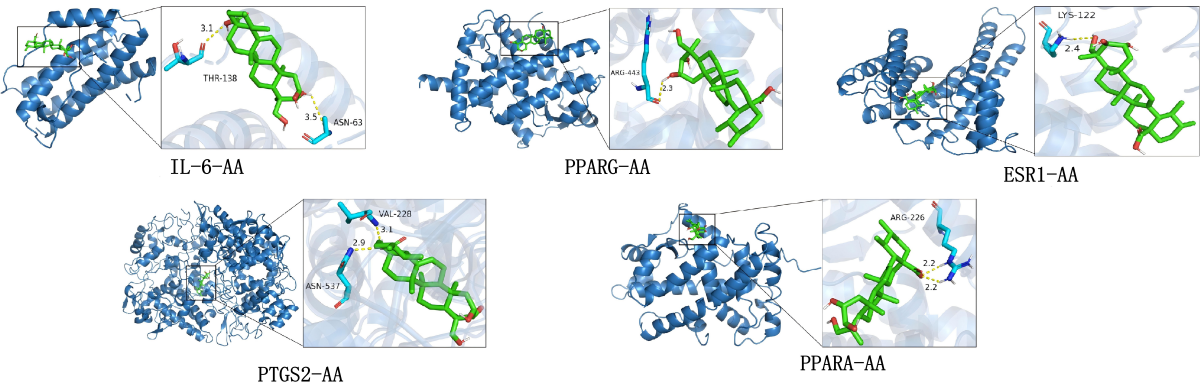
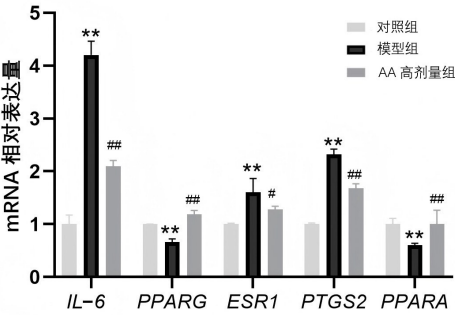


图 7 AA 与核心靶点分子对接结果



注:与对照组相比, ** $P < 0.01$;
与模型组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; $n = 3$ 。

图 6 AA 对 MASLD 斑马鱼核心靶点基因表达的影响

3 讨论

斑马鱼受精后 5 dpf 已具备哺乳动物类似的结构与功能的肝脏,组织形态与脂质代谢途径(包括脂肪酸的摄取、合成、转运和分解等过程)与哺乳动物高度保守,可快速且稳定诱导脂质沉积、脂肪变性等病理特征;且斑马鱼幼鱼胚胎发育相对透明,结合尼罗红染色

等技术可活体实时、可视化观察肝脏脂质沉积的动态过程,基于这些优势,斑马鱼幼鱼已成为研究脂质代谢紊乱等相关疾病的常用体内模型,适用于候选药物或基因的快速初筛^[8-9]。本研究中,饲喂 5% 高脂高胆固醇饲料 10 d 后,与对照组相比,模型组斑马鱼幼鱼肝脏脂质代谢、肝功能等生化指标均呈现显著紊乱;尼罗红染色出现明显肝脏脂质沉积,HE 病理染色观察到脂肪变性、炎症坏死等典型病变,符合 MASLD 核心病理特征。在 AA 给药干预后,AA 剂量依赖性地调节斑马鱼幼鱼肝脏脂质代谢紊乱、降低转氨酶水平,改善肝脏脂质沉积和肝脂肪变性、炎症等病理改变,表明 AA 对 MASLD 具有一定的干预作用。

MASLD 作为一种以代谢功能障碍为主要特点的疾病,病理机制复杂,涉及氧化应激、脂质代谢紊乱、胰岛素抵抗、炎症、肠道菌群失调和免疫系统的异常激活等多重打击因素^[10]。网络药理学为解析药物的多靶点作用机制提供了强大的工具,能够科学地解析中药

及其单体的复杂作用机制^[11]。网络药理学预测中,得到 AA 与 MASLD 交集靶点 59 个,PPI 网络拓扑分析排序前 5 的核心靶点包括 IL-6、PPARG、ESR1、PTGS2、PPARA,分子对接结果显示以上靶点与 AA 均具有良好的结合活性,进一步的富集分析结果提示,AA 抗 MASLD 作用主要与 PPAR、胰岛素抵抗、IL-17 等信号通路关联,表明 AA 可能通过调控多种生物学过程和多个信号通路发挥抗 MASLD 作用,呈现出多靶点、多环节、多通路的作用特性。

MASLD 是一种与代谢炎症密切相关的慢性肝病,在脂肪堆积、胰岛素抵抗等基础上,由氧化应激、内质网应激及炎症细胞因子介导,引发肝细胞损伤并进展为脂肪性肝炎、肝纤维化乃至肝硬化^[12]。IL-6 作为促炎因子的核心成员,可刺激肝实质细胞和肝星状细胞分泌多种细胞因子从而促进 MASLD 的发展^[13]。PTGS2 编码的环氧合酶 2(COX-2)蛋白,参与组织炎症过程及细胞的增殖过程,还能刺激产生各种炎症因子如 IL-6、TNF- α 、前列腺素等影响脂质代谢,与肝脏炎症、纤维化及代谢紊乱相关^[14-15]。qRT-PCR 实验结果中,高剂量 AA 明显降低 MASLD 斑马鱼体内升高的 IL-6、PTGS2 基因 mRNA 表达水平,表明 AA 抗 MASLD 作用与其抗炎作用密切相关。过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)是配体激活的转录因子,包括 PPAR α (PPARA)、PPAR β/δ 、PPAR γ (PPARG)等 3 种亚型,具有调节脂质代谢、糖代谢、抗炎和抗纤维化作用,与 MASLD 的发生和发展密切相关^[16]。研究表明,PPAR α 和 PPAR γ 可能是治疗 MASLD 的潜在有效靶点。PPAR α 靶向药物(贝特类)可通过下调肝载脂蛋白 ApoC-III,上调脂蛋白脂酶基因表达,抑制肝脏脂肪过度蓄积。吡格列酮作为经典 PPAR γ 激动剂,已被证实能改善脂肪组织代谢功能,其代谢重编程效应与 MASLD 组织学改善密切相关^[17]。本研究中,高剂量 AA 能升高 MASLD 斑马鱼体内降低的 PPARG、PPARA 基因 mRNA 表达,表明 AA 可能通过提高 PPARA、PPARG mRNA 表达,进而上调 PPAR 信号通路而发挥抗 MASLD 作用。此外,ESR1 基因编码产生雌激素受体 α (ER α),ER α 缺失可延缓 NASH 及 MASLD 发展^[18]。本研究中,高剂量 AA 降低 MASLD 斑马鱼体内升高的 ESR1 mRNA 表达,提示 AA 抗 MASLD 作用可能与下调 ESR1 信号通路有关。近期有研究支持双核受体靶向(同时增加 PPARA 并降低 ER α 活性)可能成为一种可行的 MASLD 新策略^[19]。

综上,本研究基于斑马鱼模型和网络药理学研究初步发现,AA 具有一定的抗 MASLD 作用,其潜在机制主要涉及对多个核心靶点(IL-6、PPARG、ESR1、

PTGS2、PPARA 等)及相关通路的调控,为后续深入机制研究提供了方向,但仍存在一定的局限性。后续将在 MASLD 细胞、斑马鱼及小鼠模型中,引入 PPAR α/γ 特异性激动剂/抑制剂,并结合基因敲低或过表达等基因编辑技术,从功能层面确证 PPAR 等信号通路及 PPARG、PPARA 等核心靶点(基因及蛋白)在 AA 干预 MASLD 中的核心调控地位。

参考文献:

- [1] WANG X M, WU S L, YUAN X J, et al. Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease and mortality among Chinese adults: a prospective cohort study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2022, 107(2): e745-e755.
- [2] 田长林, 李玉琴, 刘洪涛. 非酒精性脂肪性肝病新药的临床研究进展[J]. 中国现代应用药理学, 2024, 41(6): 858-863.
- [3] LV J W, SHARMA A, ZHANG T, et al. Pharmacological review on Asiatic acid and its derivatives: a potential compound[J]. SLAS Technol, 2018, 23(2): 111-127.
- [4] LI Y, HE X L, ZHOU L P, et al. Asiatic acid alleviates liver fibrosis via multiple signaling pathways based on integrated network pharmacology and lipidomics[J]. Eur J Pharmacol, 2022, 931: 175193.
- [5] YAN S L, YANG H T, LEE Y J, et al. Asiatic acid ameliorates hepatic lipid accumulation and insulin resistance in mice consuming a high-fat diet[J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(20): 4625-4631.
- [6] 李芝奇, 徐玥, 赵霞, 等. 斑马鱼作为一种重要的工具进行肝脏疾病研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(2): 320-332.
- [7] 余琳媛, 全云云, 龚莉虹, 等. 制首乌醇提物及其主要成分大黄素对斑马鱼非酒精性脂肪肝的治疗作用[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(5): 766-771.
- [8] QUINLIVAN V H, FARBER S A. Lipid uptake, metabolism, and transport in the larval zebrafish[J]. Front Endocrinol, 2017, 8: 319.
- [9] BHATTACHARYA D, KAUSHAL S, CHAKRABORTY B, et al. Zebrafish model of palmitic acid induced MAFLD recapitulates pathways conserved in mice and humans[J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 33343.
- [10] YANG K, SONG M. New insights into the pathogenesis of metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD): gut-liver-heart crosstalk[J]. Nutrients, 2023, 15(18): 3970.
- [11] LUO T T, LU Y, YAN S K, et al. Network pharmacology in research of Chinese medicine formula: methodology, application and prospective[J]. Chin J Integr Med, 2020, 26(1): 72-80.
- [12] SIMON J, OURO A, ALA-IBANIBO L, et al. Sphingolipids in non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: ceramide turnover[J]. Int J Mol Sci, 2019,

21(1):40.

[13] GIRALDEZ M D,CARNEROS D,GARBERS C,et al. New insights into IL-6 family cytokines in metabolism, hepatology and gastroenterology[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol,2021,18(11):787-803.

[14] JURADO-ESCOBAR R,DOÑA I,PERKINS J R,et al. Association of single nucleotide polymorphisms in PTGS1 and PTGS2 with aspirin-induced urticaria/angioedema[J]. J Allergy Clin Immunol, 2019, 143 (2): AB67.

[15] MIRSHAFIEY A,MORTAZAVI-JAHROMI S S,TAE-B M,et al. Evaluation of the effect of α -L-guluronic acid (G2013) on COX-1,COX-2 activity and gene expression for introducing this drug as a novel NSAID with immunomodulatory property[J]. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov,2018,12(2):162-168.

[16] LONARDO A,WEISKIRCHEN R. PPARs in molecular pathogenesis and drug treatment of type 2 diabetes-related MASLD[J]. Explor Dig Dis,2025,4:100590.

[17] QIU Y Y,ZHANG J,ZENG F Y,et al. Roles of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease(NAFLD) [J]. Pharmacol Res,2023,192:106786.

[18] CHEN C Y,LI Y,ZENG N,et al. Inhibition of estrogen-related receptor α blocks liver steatosis and steatohepatitis and attenuates triglyceride biosynthesis [J]. Am J Pathol,2021,191(7):1240-1254.

[19] ANTWI M B,LEFERE S,CLARISSE D,et al. PPAR α -ERR α crosstalk mitigates metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease progression[J]. Metabolism, 2025,164:156128.

收稿日期:2026-01-23;修回日期:2026-04-10

(本文编辑 钟琳)

(上接第 582 页)

[22] NANDY A,HELDERMAN R C M,THAPA S,et al. Lipolysis supports bone formation by providing osteoblasts with endogenous fatty acid substrates to maintain bioenergetic status[J]. Bone Res,2023,11:62.

[23] ZHOU P,LIU L,LU K,et al. Association between triglycerides and lumbar bone mineral density in Chinese patients with osteoporotic fractures: a retrospective cross-sectional study[J]. Sci Rep,2024,14:29473.

[24] DENG A F,WANG F X,WANG S C,et al. Bone-organ axes:bidirectional crosstalk[J]. Mil Med Res,2024,11(1):37.

[25] PALKOWITZ A L,RÜGER S,ZIEGLER M,et al. Transglutaminase enables highly hydrolytically and proteolytically stable crosslinking of collagen on titanium surfaces and promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. J Biomed Mater Res Part A,2024,112(6):812-824.

[26] GUAN Z Y,ZHENG X Q,ZHU J X,et al. Estrogen deficiency induces bone loss through the gut microbiota [J]. Pharmacol Res,2023,196:106930.

[27] NA Z,WEI W,XU Y F,et al. Role of menopausal hormone therapy in the prevention of postmenopausal osteoporosis[J]. Open Life Sci,2023,18:20220759.

[28] CHEN L,CHEN S,BAI X K,et al. Low-density lipoprotein cholesterol,cardiovascular disease risk,and mortality in China [J]. JAMA Netw Open, 2024, 7 (7): e2422558.

[29] ZHAN H X,LIU X Y,PIAO S H,et al. Association between triglyceride-glucose index and bone mineral density in US adults: a cross sectional study[J]. J Orthop Surg Res,2023,18(1):810.

[30] QI S,PENG B,XU Z,et al. The relationship between non-HDL-C/HDL-C ratio and bone mineral density: an NHANES study[J]. Front Nutr,2025,11:1486370.

收稿日期:2025-12-19;修回日期:2026-04-15

(本文编辑 覃洪含)