

龙胆环烯醚萜类成分对NAFLD细胞模型脂质积累及炎症的改善作用及机制^Δ

王丽娟*, 翁丽丽#, 肖春萍, 于 前, 寇柏鑫(长春中医药大学药学院, 长春 130117)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)19-2354-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.19.10



摘要 目的 研究龙胆环烯醚萜类成分(gentian iridoids, GI)对非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)细胞模型脂质积累及炎症的改善作用及机制。方法 以游离脂肪酸(0.5 mmol/L)诱导的人肝癌HepG2细胞为NAFLD细胞模型。考察不同浓度(0.125、0.25、0.5、1、2、4 mg/mL)GI对HepG2细胞活力的影响。将HepG2细胞分为对照组、模型组和GI低、中、高浓度组(0.25、0.5、1 mg/mL),除对照组外,其余组均加入0.5 mmol/L游离脂肪酸进行造模。培养24 h后,考察HepG2细胞内脂滴形成的情况,检测细胞内三酰甘油(TG)含量,检测细胞上清液中天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)和炎症指标[白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)]的水平;检测细胞中固醇调节元件结合蛋白1c(SREBP-1c)、脂肪酸合成酶(FAS)mRNA和核因子 κ B(NF- κ B)信号通路相关蛋白[NF- κ B抑制蛋白 α (I κ B α)、NF- κ B、磷酸化NF- κ B(p-NF- κ B)]的表达。结果 HepG2细胞经不同浓度GI作用后,细胞活力均显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,GI各浓度组细胞内红色脂滴明显减少,细胞核萎缩不明显、体积大小正常;细胞内TG含量(低浓度组除外),细胞上清液中AST、ALT、IL-1 β 、IL-6(低剂量组除外)、TNF- α 水平,细胞中SREBP-1c、FAS mRNA表达水平以及NF- κ B蛋白磷酸化水平均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),I κ B α 蛋白表达水平均显著升高($P < 0.01$)。结论 GI可减少NAFLD细胞模型的脂质积累,减轻炎症反应,其作用机制可能与抑制SREBP-1c/FAS及NF- κ B信号通路有关。

关键词 龙胆; 环烯醚萜类成分; 脂质积累; 炎症反应; 核因子 κ B信号通路; 非酒精性脂肪性肝病

Improvement effects and mechanism of gentian iridoids on lipid accumulation and inflammation in NAFLD cell model

WANG Lijuan, WENG Lili, XIAO Chunping, YU Qian, KOU Baixin (School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To study the improvement effects and mechanism of gentian iridoids (GI) on lipid accumulation and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) model. **METHODS** Human hepatoma HepG2 cells induced by free fatty acids (0.5 mmol/L) were selected as NAFLD cell models. The effects of GI at different concentrations (0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg/mL) on HepG2 cell viability were investigated. HepG2 cells were divided into control group, model group and low, medium and high concentration groups of GI (0.25, 0.5 and 1 mg/mL). Except for control group, 0.5 mmol/L free fatty acid was added in other groups for modeling. After 24 h of culture, the formation of lipid droplets was observed in HepG2 cells; the content of triglyceride (TG) was detected. The levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and inflammation indexes [interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, tumor necrosis factor α (TNF- α)] in cell supernatant were determined. The mRNA expressions of sterol-regulatory element binding protein (SREBP-1c) and fatty acid synthase (FAS) as well as the expression of nuclear factor- κ B (NF- κ B) related proteins [NF- κ B inhibitor protein α (I κ B α), NF- κ B, phosphorylated NF- κ B (p-NF- κ B)] were also detected. **RESULTS** After treated with different concentrations of GI, the cell viability of HepG2 cells was improved significantly ($P < 0.01$). Compared with model group, the number of red lipid droplets in the cells of each concentration group of GI was significantly reduced, the nuclear atrophy was not obvious, and the size was normal; the content of TG (except for low concentration group), and the levels of ALT, AST, IL-1 β , IL-6 (except for low concentration group) and TNF- α in cell supernatant were all decreased significantly; mRNA expression of SREBP-1c and FAS and the phosphorylation level of NF- κ B were also decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); the protein expression of I κ B α was increased significantly ($P < 0.01$). **CONCLUSIONS** GI can reduce the lipid accumulation and inflammatory response of NAFLD cell model induced by free fatty

acids, and its mechanism may be related to the inhibition of SREBP-1c/FAS and NF- κ B signaling pathway.

KEYWORDS *Gentiana scabra*; gentian iridoids; lipid accumulation; inflammatory response; nuclear factor- κ B signaling pathway; non-alcoholic fatty liver disease

^Δ 基金项目 吉林省科技发展计划项目(No. YDZJ202201-ZYTS636)

* 第一作者 博士研究生。研究方向:中药资源、品质评价及开发利用。E-mail:1575907709@qq.com

通信作者 教授,博士生导师。研究方向:中药资源、品质评价及开发利用。E-mail:735110462@qq.com

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种临床病理综合征。随着人们生活水平的提高,NAFLD的发病率也大幅增加,据2019年流行病学数据统计,NAFLD的全球患病率高达25%^[1]。脂质积累作为NAFLD的主要特征,通常出现在疾病发展的早期,其引起的炎症反应也是NAFLD的另一个主要特征^[2-3]。脂肪在肝脏的过度累积可活化核因子 κ B抑制蛋白 α (nuclear factor- κ B inhibitory protein α , I κ B α),激活NF- κ B信号通路,促进肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和IL-6等炎症因子的释放,从而产生炎症^[4]。脂质积累及其引起的炎症反应若在疾病早期及时干预是可以逆转的,如果不进行干预,后期可能发展为肝硬化或肝癌,严重危及患者生命健康^[5]。目前治疗NAFLD主要依靠药物或者机体的自身调节作用,但药物副作用较大且患者依从性较差^[6]。因此,有必要寻找新的治疗NAFLD的药物。

龙胆为龙胆科植物条叶龙胆 *Gentiana manshurica* Kitag.、龙胆 *G. scabra* Bge.、三花龙胆 *G. triflora* Pall. 或坚龙胆 *G. rigescens* Franch. 的干燥根及根茎,具有清热燥湿、泻肝胆火的功效,临床上含有龙胆的方剂主要用于保肝,且疗效较好^[7-8]。环烯醚萜苷类化合物为龙胆的主要成分,具有多种药理活性,如保肝、降脂、抗炎和利胆作用^[9-10]。但是,龙胆环烯醚萜类成分(gentian iridoids, GI)是否可改善NAFLD尚不明确。基于此,本研究首先以D101大孔树脂柱分离GI,然后以游离脂肪酸诱导的人肝癌HepG2细胞为NAFLD细胞模型^[11],初步探讨GI对NAFLD的改善作用及机制,以期为NAFLD治疗药物的开发提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有TM3型二氧化碳细胞培养箱、Multiscan MK3型酶标仪、QuantStudio™ 5型实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪、IBright FL1000型智能凝胶成像系统(美国Thermo Fisher Scientific公司),810R型离心机(德国Eppendorf公司),Discovery V20型倒置荧光显微镜(德国Zeiss公司),Mini Protean型蛋白电泳仪(美国Bio-Rad公司)。

1.2 药品与试剂

龙胆药材购自吉林省北药药材加工有限公司(批号ldzc3-20171017-2),经长春中医药大学药学院翁丽丽教授鉴定为龙胆 *G. scabra* Bge. 的干燥根及根茎。其他药品与试剂有胎牛血清(以色列BI公司,批号2120140),DMEM培养基(美国Gibco公司,批号8121342),胰蛋白酶、青链霉素双抗(美国HyClone公司,批号分别为

J210033、J200012),油红O试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号20210426),三酰甘油(triglyceride, TG)试剂盒(南京建成科技有限公司,批号20210612),丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)试剂盒、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒、小鼠IL-1 β 试剂盒、小鼠IL-6试剂盒、小鼠TNF- α 试剂盒(江苏酶免实业有限公司,批号分别为MM-44625M1、MM-44115M1、MM-0039M1、MM-0163M1、MM-0132M1),棕榈酸、油酸(美国Sigma公司,批号分别为101298301、1011202365),RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒、cDNA扩增试剂盒(日本TaKaRa公司,批号分别为AL40413A、AL50948A、AL61810A),兔源I κ B α 多克隆抗体、兔源NF- κ B多克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(武汉三鹰生物技术有限公司,批号分别为00095768、00086772、20000311),兔源磷酸化NF- κ B(p-NF- κ B)多克隆抗体(美国Cell Signaling公司,批号17)。 β -肌动蛋白(β -actin)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)、固醇调节元件结合蛋白1c(sterol regulatory element binding protein 1c, SREBP-1c)的PCR引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物序列与扩增产物长度见表1。

表1 PCR引物序列及扩增产物长度

引物名称	引物序列(5'→3')	产物长度/bp
<i>β-actin</i>	上游引物:CCACCATGTACCCTGGCAIT	189
	下游引物:CGGACTCGTCATACTCCTGC	
FAS	上游引物:GCTGCGGAAACTTCAGGAAAT	84
	下游引物:AGAGACGTGTCACTCTGGACTT	
SREBP-1c	上游引物:GTGAGCCTGACAAGCAATCA	103
	下游引物:GGTGCCTACAGCAAGAG	

1.3 细胞

人肝癌HepG2细胞购自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所。

2 方法

2.1 GI的提取

称取龙胆药材3.0 kg,加水煎煮2次(2次水和药材的质量比分别为10:1、8:1),每次1.5 h。合并2次滤液,浓缩成质量浓度为1.2 g/mL的溶液(以生药量计)。将上述浓缩液加水稀释成质量浓度为0.1 g/mL的样品溶液,加入D101大孔树脂柱中,以30%乙醇进行洗脱纯化,收集洗脱液;将洗脱液于60℃下减压蒸馏浓缩,蒸干,即得GI(得率为7%,其中龙胆苦苷的含量为54.6 mg/g)。

2.2 细胞培养

将HepG2细胞接种于含10%胎牛血清、1%青霉素/链霉素的DMEM培养基(以下简称“培养基”)中,于37℃、5% CO₂细胞培养箱中培养。当细胞融合度达

80%时,用0.25%胰蛋白酶消化,再进行传代培养和后续实验。

2.3 HepG2细胞活力的检测

采用CCK-8法进行检测。取对数生长期HepG2细胞,以 1×10^4 个/孔接种于96孔板中,然后分为对照组、模型组和GI不同浓度组(0.125、0.25、0.5、1、2、4 mg/mL,浓度根据预实验结果设置),每组设3个复孔。参考文献[12]方法,对照组加入含1%牛血清蛋白的培养基,模型组加入含0.5 mmol/L游离脂肪酸(由油酸和棕榈酸按2:1比例配制而成,以复制NAFLD细胞模型,下同)的培养基,给药组加入含相应浓度药物和0.5 mmol/L游离脂肪酸的培养基。培养24 h后,采用酶标仪测定各孔吸光度值,吸光度值越大,细胞活力越强。

2.4 HepG2细胞脂滴形成情况观察

采用油红O染色法进行观察。取对数生长期HepG2细胞,以 2×10^5 个/孔接种于6孔板中,然后分为对照组、模型组和GI低、中、高浓度组(0.25、0.5、1 mg/mL,浓度根据“2.3”项下结果设置),每组设3个复孔。对照组加入含有1%牛血清蛋白的完全培养基,模型组加入含有0.5 mmol/L游离脂肪酸的培养基,GI低、中、高浓度组加入含相应药物和0.5 mmol/L游离脂肪酸的培养基。培养24 h后,各组细胞按油红O染色试剂盒说明书方法操作,然后采用倒置显微镜观察并拍照。

2.5 HepG2细胞内TG含量的检测

取对数生长期HepG2细胞,按“2.4”项下方法接种、分组、造模与给药,每组设3个复孔。培养24 h后收集细胞,采用超声破碎仪进行超声裂解,然后按照TG试剂盒说明书方法操作,检测HepG2细胞内TG含量。

2.6 HepG2细胞上清液中肝功能指标和炎症指标检测

取对数生长期HepG2细胞,按“2.4”项下方法接种、分组、造模与给药,每组设3个复孔。培养24 h后收集培养基,以3 000 r/min离心15 min,取上清液,按试剂盒说明书相关方法操作后,检测AST、ALT、IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平。

2.7 HepG2细胞中SREBP-1c、FAS mRNA的表达水平检测

采用实时荧光定量PCR法进行检测。取对数生长期HepG2细胞,按 2×10^5 个/孔接种于6孔板中,按“2.4”项下方法分组、造模与给药,每组设3个复孔。细胞培养24 h后,提取总RNA,然后根据逆转录试剂盒说明书方法,逆转录为cDNA,再进行PCR扩增。PCR反应条件为95℃预变性30 s;95℃变性3 s,60℃退火30 s,共40个循环。以 β -actin作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基

因的表达水平。

2.8 HepG2细胞中I κ B α 、NF- κ B、p-NF- κ B蛋白表达检测

采用Western blot法进行检测。取对数生长期细胞,按 2×10^5 个/孔接种于6孔板中,按“2.4”项下方法分组、造模与给药,每组设3个复孔。细胞培养24 h后,加入适量RIPA裂解液提取总蛋白,并置于冰上充分裂解30 min,于4℃条件下以12 000 r/min离心15 min,取上清液采用BCA法测定蛋白浓度。蛋白经煮沸变性后,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜;以5%脱脂奶粉封闭1.5 h,加入I κ B α 、NF- κ B、p-NF- κ B、 β -actin一抗(稀释度均为1:1 000),室温孵育2.5 h;以TBST洗膜3次,每次10 min,加入二抗(稀释度为1:6 000),室温孵育1 h;以TBST洗膜3次,每次10 min,加入ECL化学发光试剂,采用全自动化学发光成像分析仪成像。采用Image J 6.0软件进行分析,以I κ B α 蛋白与内参 β -actin的灰度值比值表示I κ B α 蛋白的表达水平,以p-NF- κ B蛋白与NF- κ B蛋白的灰度值比值表示NF- κ B蛋白的磷酸化水平。

2.9 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 GI对HepG2细胞活力的影响

与对照组比较,模型组HepG2细胞活力显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,GI不同浓度组HepG2细胞活力均显著升高($P<0.01$)。结果见表2。

表2 各组HepG2细胞活力的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	吸光度	组别	吸光度
对照组	1.01 \pm 0.02	GI 1 mg/mL组	0.90 \pm 0.02 ^b
模型组	0.43 \pm 0.05 ^a	GI 2 mg/mL组	0.88 \pm 0.07 ^b
GI 0.25 mg/mL组	0.57 \pm 0.05 ^b	GI 4 mg/mL组	0.89 \pm 0.15 ^b
GI 0.50 mg/mL组	0.86 \pm 0.06 ^b		

a:与对照组比较, $P<0.01$;b:与模型组比较, $P<0.01$

3.2 GI对HepG2细胞脂滴形成的影响

对照组HepG2细胞边缘清晰,细胞质丰富,细胞内未见红色脂滴。模型组HepG2细胞内可见大量红色脂滴,细胞核明显萎缩、体积变小。GI各浓度组HepG2细胞内红色脂滴均明显减少,细胞核萎缩不明显、体积大小正常。结果见图1。

3.3 GI对HepG2细胞内TG含量的影响

与对照组比较,模型组HepG2细胞内TG含量显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,GI中、高浓度组HepG2细胞内TG含量均显著降低($P<0.01$)。结果见表3。

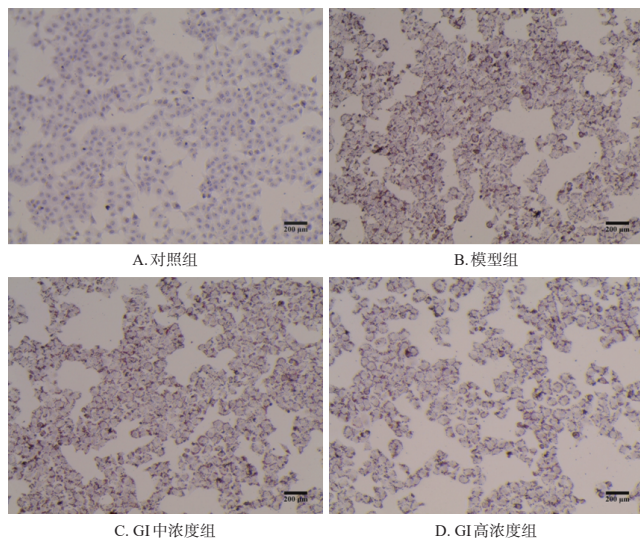


图1 GI对HepG2细胞脂滴形成的影响结果(油红O染色)

表3 各组HepG2细胞(上清液)中TG含量、肝功能指标和炎症指标水平的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TG/(mmol/L)	AST/(mg/mL)	ALT/(mg/mL)	IL-1 β /(ng/L)	IL-6/(mg/L)	TNF- α /(pg/mL)
对照组	1.54 \pm 0.35	123.34 \pm 7.12	84.00 \pm 4.84	21.12 \pm 0.64	123.35 \pm 1.55	201.23 \pm 9.78
模型组	2.55 \pm 0.30 ^a	159.75 \pm 2.30 ^a	135.40 \pm 0.01 ^a	46.82 \pm 3.33 ^a	162.04 \pm 6.06 ^a	368.62 \pm 6.72 ^a
GI低浓度组	2.23 \pm 0.43	136.10 \pm 4.60 ^b	121.02 \pm 3.58 ^b	36.23 \pm 2.16 ^c	155.52 \pm 11.39	295.43 \pm 18.78 ^b
GI中浓度组	1.82 \pm 0.44 ^c	129.23 \pm 5.89 ^b	93.82 \pm 3.71 ^c	34.75 \pm 2.64 ^c	133.06 \pm 4.21 ^c	246.16 \pm 3.69 ^c
GI高浓度组	1.64 \pm 0.22 ^c	126.31 \pm 3.35 ^c	90.84 \pm 3.87 ^c	27.71 \pm 0.65 ^c	130.74 \pm 6.31 ^c	211.38 \pm 5.42 ^c

a:与对照组比较, $P<0.01$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与模型组比较, $P<0.01$

3.4 GI对HepG2细胞上清液中肝功能指标和炎症指标水平的影响

与对照组比较,模型组HepG2细胞上清液中AST、ALT、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,GI各浓度组HepG2细胞上清液中上述指标水平(低剂量组IL-6除外)均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3.5 GI对HepG2细胞中SREBP-1c、FAS mRNA表达水平的影响

与对照组比较,模型组HepG2细胞中SREBP-1c、FAS mRNA表达水平均显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,GI各浓度组HepG2细胞中SREBP-1c、FAS mRNA表达水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见表4。

3.6 GI对HepG2细胞中I κ B α 、NF- κ B、p-NF- κ B蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组HepG2细胞中I κ B α 蛋白表达水平显著降低($P<0.01$),NF- κ B蛋白磷酸化水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,GI各浓度组HepG2细胞中上述蛋白的表达水平或磷酸化水平均显著逆转($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见图2、表5。

表4 各组HepG2细胞中SREBP-1c、FAS mRNA表达水平的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	SREBP-1c mRNA	FAS mRNA
对照组	1.28 \pm 0.25	0.89 \pm 0.20
模型组	6.15 \pm 0.75 ^a	3.74 \pm 0.10 ^a
GI低浓度组	4.41 \pm 0.14 ^b	1.76 \pm 0.21 ^c
GI中浓度组	3.25 \pm 0.10 ^c	1.39 \pm 0.09 ^c
GI高浓度组	1.64 \pm 0.47 ^c	1.35 \pm 0.10 ^c

a:与对照组比较, $P<0.01$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与模型组比较, $P<0.01$

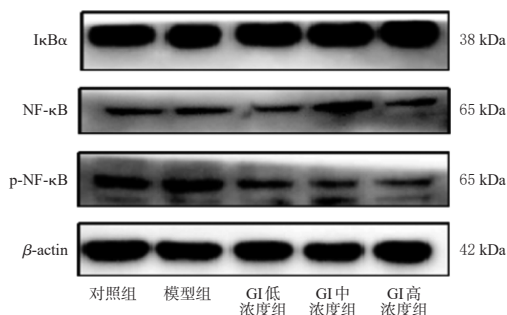


图2 各组HepG2细胞中I κ B α 、NF- κ B、p-NF- κ B蛋白表达的电泳图

表5 各组HepG2细胞中I κ B α 和NF- κ B蛋白表达(磷酸化)水平的检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	I κ B α / β -actin	p-NF- κ B/NF- κ B
对照组	1.07 \pm 0.08	0.94 \pm 0.03
模型组	0.83 \pm 0.02 ^a	1.07 \pm 0.02 ^a
GI低浓度组	1.09 \pm 0.06 ^b	0.83 \pm 0.02 ^c
GI中浓度组	1.15 \pm 0.05 ^c	0.77 \pm 0.04 ^c
GI高浓度组	1.18 \pm 0.02 ^c	0.81 \pm 0.04 ^c

a:与对照组比较, $P<0.01$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与模型组比较, $P<0.01$

4 讨论

环烯醚萜类化合物广泛存在于植物界,其在龙胆科、玄参科和茜草科等双子叶植物中均有分布。相关研究发现,龙胆环烯醚萜类成分具有较好的保肝活性^[13],但其是否可以治疗NAFLD尚不明确。基于此,笔者以游离脂肪酸诱导的HepG2细胞为NAFLD细胞模型,探讨GI对NAFLD的改善作用及机制。本研究结果显示,GI可显著升高HepG2细胞的活力,减少脂滴的形成,并降低TG含量及AST、ALT水平,表明GI可减少HepG2细胞中的脂质积累,且该结果与龙胆可减少肝内脂质积累的作用相一致^[14]。

NAFLD的过量脂质积累可导致氧化应激和线粒体功能障碍,从而诱导炎症反应。IL-1 β 、IL-6和TNF- α 等促炎症因子在NAFLD进展中具有重要作用,且其受NF- κ B信号通路调节^[15]。NF- κ B信号通路的关键环节是I κ B激酶(I κ B kinase, IKK)的激活,活化后的IKK可磷酸化I κ B α 并介导I κ B α 的泛素化降解,从而释放NF- κ B进入细胞核,导致上述促炎症因子水平升高^[16]。本研

究结果发现,GI可降低HepG2细胞上清液中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平,升高细胞中I κ B α 蛋白表达水平,降低NF- κ B蛋白磷酸化水平,这表明GI可能是通过抑制NF- κ B信号通路来降低HepG2细胞的炎症反应。

SREBP-1c是一种转录因子,其表达升高可导致TG的过度积累,从而促进NAFLD的发生、发展^[17]。FAS是SREBP-1c的下游因子,SREBP-1c激活后可促进FAS基因的转录表达,进而促进TG的合成及脂质的积累^[18-19]。本研究结果发现,GI可下调SREBP-1c、FAS mRNA的表达,这提示GI可通过下调SREBP-1c/FAS信号通路来减少HepG2细胞的脂质积累。

综上所述,GI可减少游离脂肪酸诱导的NAFLD细胞模型的脂质积累,减轻炎症反应,其作用机制可能与抑制SREBP-1c/FAS及NF- κ B信号通路有关。

参考文献

[1] LEM H, YEOY H, LI X H, et al. 2019 global NAFLD prevalence: asystematic review and meta-analysis[J/OL]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2021[2022-07-23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34890795/>. DOI: 10.1016/j.cgh.2021.12.002. Online ahead of print.

[2] IPSEND H, LYKKESFELDT J, TVEDEN-NYBORG P. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Cell Mol Life Sci, 2018, 75(18): 3313-3327.

[3] POWELLE E, WONGV W S, RINELLA M. Non-alcoholic fatty liver disease[J]. Lancet, 2021, 397(10290): 2212-2224.

[4] HEIDA A, GRUBEN N, CATRYSSSE L, et al. The hepatocyte IKK: NF- κ B axis promotes liver steatosis by stimulating de novo lipogenesis and cholesterol synthesis[J]. Mol Metab, 2021, 54: 101349.

[5] ZHANG S M, MENG G, ZHANG Q, et al. Inflammatory potential of diet and risk of nonalcoholic fatty liver disease: a prospective cohort study[J]. Eur J Clin Nutr, 2022, 76(8): 1125-1132.

[6] SINGH S, OSNAN A, KHARBANDAK K. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: a review[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(36): 6549-6570.

[7] 潘旭,朱鹤云,张昌浩,等.龙胆化学成分和药理作用研究进展[J].吉林医药学院学报,2020,41(2):150-151.

[8] 赵兴华.滋肾益肝方及龙胆泻肝汤联合多烯磷脂酰胆碱治疗急性药物性肝损伤临床研究[J].实用中医药杂志,2021,37(10):1699-1701.

[9] WANG C C, GONG X, BO A, et al. Iridoids: research ad-

vances in their phytochemistry, biological activities, and pharmacokinetics[J]. Molecules, 2020, 25(2): E287.

[10] 唐利东,王健英,谭丹,等.杜仲三萜、环烯醚萜类成分对胶原诱导性关节炎大鼠的影响[J/OL].中国中药杂志,2022[2022-08-22]. https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CAPJ&dbname=CAPJLAST&filename=ZGZY20220601003&uniplatform=NZKPT&v=z0P-wKB8LthDYcKOlz_FknmX0Qdw0R9Ii21no-cGC4BaKrbropz3Me5_6BodMtcV. DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20220401.703.

[11] KANURI G, BERGHEIM I. *In vitro* and *in vivo* models of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(6): 11963-11980.

[12] 邢菊玲,刘芬,冯萌,等.桑根酮C对游离脂肪酸诱导人肝癌HepG2细胞脂质蓄积的改善作用[J].中国药房,2021,32(15):1868-1873.

[13] ZHANG W J, LIN H, CHENG W L, et al. Protective effect and mechanism of plant-based monoterpenoids in non-alcoholic fatty liver diseases[J]. J Agric Food Chem, 2022, 70(16): 4839-4859.

[14] ZHENG Y Y, FANG D, HUANG C Y, et al. *Gentiana scabra* restrains hepatic pro-inflammatory macrophages to ameliorate non-alcoholic fatty liver disease[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 816032.

[15] MIREAA M, TACKC J, CHAVAKIS T, et al. IL-1 family cytokine pathways underlying NAFLD: towards new treatment strategies[J]. Trends Mol Med, 2018, 24(5): 458-471.

[16] BAGHERIEH M, KHEIROLLAHI A, ZAMANI-GARMSIRI F, et al. Folic acid ameliorates palmitate-induced inflammation through decreasing homocysteine and inhibiting NF- κ B pathway in HepG2 cells[J]. Arch Physiol Biochem, 2021: 2021Feb17; 1-2021Feb17; 8.

[17] GEETHANGILI M, LINC W, MERSMANNH J, et al. Methyl brevifolincarboxylate attenuates free fatty acid-induced lipid metabolism and inflammation in hepatocytes through AMPK/NF- κ B signaling pathway[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(18): 10062.

[18] LI L F, ZHANG X Y, REN H J, et al. miR-23a/b-3p promotes hepatic lipid accumulation by regulating Srebp-1c and Fas[J]. J Mol Endocrinol, 2021, 68(1): 35-49.

[19] WANG Y H, VISCARRA J, KIMS J, et al. Transcriptional regulation of hepatic lipogenesis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2015, 16(11): 678-689.

(收稿日期:2022-03-21 修回日期:2022-08-24)

(编辑:唐晓莲)