

基于肝脏脂质组学高脂饮食诱导代谢性脂肪的生物机制研究

★ 翟兴英¹ 张启云¹ 李佳² 姜丽¹ 徐国良¹ 李冰涛¹ (1. 江西中医药大学中医基础理论分化发展研究中心 / 江西省中医病因生物学重点实验室 南昌 330004 ; 2. 江西中医药大学药学院 南昌 330004)

[摘要] 目的: 基于肝脏脂质组学探索高脂饮食诱导代谢性脂肪肝的生物机制。方法: 20只SD大鼠随机平均分为空白组、模型组。空白组给予普通饲料, 模型组给予高脂饲料。28周后, 麻醉处死实验大鼠, 检测血脂、血糖相关指标, 油红O染色法评价肝组织脂肪变性形态学。LC-Q-TOF/MS检测大鼠肝脏脂质, 多元统计分析筛选差异脂质代谢物, Metabo Analyst富集脂质标志物代谢通路。结果: 与空白组比较, 模型组大鼠体重、甘油三酯、空腹血糖及胰岛素抵抗指数显著升高, 高密度脂蛋白胆固醇含量显著降低。油红O染色显示模型组大鼠肝脏存在大量油滴。脂质组学结果显示, 空白组与模型组大鼠脂质代谢轮廓存在明显差异, PLS-DA分析发现29个潜在代谢标志物, 其中19个潜在代谢标志物在模型组显著下降, 主要是磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇类脂质等, 另外10个在模型组上升, 主要是鞘磷脂、神经酰胺、甘油三酯等。通路富集分析显示, 潜在代谢标志物涉及甘油磷脂代谢、亚油酸代谢、鞘脂代谢等6条代谢通路, 其中甘油磷脂代谢是最重要的代谢通路。结论: 高脂饮食可能通过甘油磷脂代谢等代谢通路调节实验动物肝组织内磷脂、鞘磷脂代谢导致甘油三酯肝内沉积。

[关键词] 脂质组学; 高脂饮食; 代谢性脂肪肝; 代谢标志物

中图分类号: R285 文献标志码: A DOI: 10.20141/j.0411-9584.2025.03.16

代谢性脂肪性肝病(MAFLD), 也称作非酒精性脂肪性肝病, 是一种与代谢紊乱相关肝细胞内脂肪积累的疾 病, 目前已成为全球范围内最常见的慢性肝病之一^[1-2]。据估计, 全球MAFLD的患病率为6%~35%, 且这一数字仍在不断上升^[3]。在中国, 成年人的MAFLD患病率更是高达29.2%, 在糖尿病和肥胖人群中, 这一比率甚至超过了70%^[4]。随着病情的发展, MAFLD有可能恶化, 发展成为肝功能衰竭甚至肝癌^[5]。由于MAFLD的确切发病机制尚未完全阐明, 现有的治疗策略主要集中在调整生活方式。深入理解MAFLD的发病机制是目前该领域的研究前沿热点。本研究通过构建高脂饲料诱导代谢性脂肪肝大鼠模型, 利用脂质组学技术分析肝脏组织的脂质代谢标志物及相关代谢通路, 以期为MAFLD的生物学机制提供科学依据。

1 材料

1.1 试剂

甲醇、乙腈(德国Merck公司, HPLC级); 甲酸(Sigma-aldrich公司)。高脂饲料为60%脂肪比饲料(江苏帆泊公司, 批号D12492); 葡萄糖试剂(宁波普瑞柏, 批号GL8322); 血清胰岛素ELISA试剂盒(Andygene公司, 批号201810)。

1.2 实验动物

5周龄SPF级雄性SD大鼠20只, 4~5周龄, 体质量(180±20)g, 购买于江西中医药大学实验动物科技中心, 动物许可证号为SCXK(赣)2018-0003。

1.3 仪器设备

罗氏ACCU-CHEK血糖仪; 台式高速冷冻离心机(美国Thermofisher公司); 离心浓缩系统(美国Thermofisher公司); LC-QTOF-MS高效液相色谱质谱联用仪(美国Waters公司); 色谱柱ACQUITY UPLC CSH C₁₈柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 数据分析软件Progenesis QI(美国Waters公司)。

2 方法

2.1 动物造模方法

大鼠适应性饲养1周, 按体重随机平均分为模型组和正常组, 正常组大鼠给予普通饲料, 模型组大鼠给予高脂饲料, 均饲养于江西中医药大学实验动物科技中心屏障系统, 连续喂养28周^[6]。动物实验经江西中医药大学动物伦理委员会批准, 动物伦理编号(JZSYDWLL-20200828), 相关实验动物操作按照科学技术部颁发的《实验动物管理条例》(2017版)要求进行。

2.2 一般指标观察方法

实验中观察体重(BW)、大鼠毛色、精神状态

基金项目: 江西省教育厅科技项目(GJJ211237); 江西中医药大学校级创新团队发展计划项目(CXTD22015)。

通信作者: 李冰涛, 博士, 副教授。E-mail: ljw10@126.com。

等情况。

2.3 样品采集方法

末次给药后大鼠禁食不禁水 12 h, 10% 水合氯醛进行动物麻醉。腹主动脉采集大鼠血液, 静置 2 h, 置于 4 °C 离心机, 3 500 r/min 离心 10 min 后, 取上清液分装, 于 -80 °C 冰箱保存。分别取 2 组大鼠肝脏相同部位, 一部分放入 4% 多聚甲醛固定, 用于油红 O 染色; 另一部分保存于 -80 °C 冰箱, 用于脂质组学分析。

2.4 生化指标检测方法

采用胆固醇氧化酶法检测血清总胆固醇 (TC) 水平、甘油三酯酶法检测血清总甘油三酯 (TG) 水平、均相酶比色法检测血清中高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、己糖激酶法检测血清中空腹血糖 (FBG) 和空腹血清胰岛素 (Fins), 具体操作均按照相应试剂盒说明书进行, 计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR), 计算方法 = 空腹血糖浓度 (mmol/L) × 血清胰岛素浓度 (μU/mL) / 22.5。

2.5 肝组织前处理方法^[7]

甲酸水溶液按体积比 1 : 1 配制, 4 °C 冰箱预冷 30 min。定量称取肝组织 50 mg, 放置 2 mL 离心管, 添加 400 μL 预冷甲醇水。取组织样品, 频率为 1 000 Hz, 时间 5 min。粉碎后组织样品加入甲基叔丁基醚 (MTBE) 600 μL, 涡旋混匀 1 min, 静置 10 min 后, 取液态溶液, 离心, 条件为 15 000 r/min, 4 °C, 5 min。取上清液 150 μL, 置 1.5 mL 离心管, 真空离心干燥系统干燥。干燥后样品添加 200 μL (异丙醇 : 乙腈 : 水 = 2 : 1 : 1) 定容。随机进样, 样品室温度 10 °C, 进样体积 3 μL。

2.6 LC-Q-TOF/MS 方法^[8]

流动相 A 为 0.1% 甲酸和 10 mmol 甲酸铵乙腈 - 水 (60 : 40), 流动相 B 为 0.1% 甲酸及 10 mM 甲酸铵异丙醇 - 乙腈 (90 : 10), 柱温 55 °C, 样品室温度 20 °C, 流速 0.3 mL/min, 梯度洗脱。洗脱条件: 0~2.0 min, 40% → 43%B; 2.0~2.1 min, 43% → 50%B; 2.1~12.0 min, 50% → 54%B; 12.0~12.1min, 54% → 70%B; 12.1~18.0 min, 70% → 99%B; 18.0~18.1 min, 99% → 40%B; 18.1~20.0 min, 40% → 40%B。

质谱条件为正离子模式下, 毛细管电压和锥孔电压分别为 2 kV 和 40 V; 负离子模式下, 毛细管电压和锥孔电压分别为 2 kV 和 40 V。源温 120 °C, 脱溶剂气温 450 °C。采用 MSe 模式进行 Continuum 数据采集, 一级扫描范围为 100~2 000 Da, 扫描时间为 0.2 s, 对所有母离子按 20~50 eV 的能量进行

碎裂, 采集所有碎片信息。

2.7 样品质量控制方法

质控样本 (QC) 制备由所有样本的提取液等体积混合制备而成。具体方法: 采集制备后血清 10 μL, 混合, 即为质控样品。样品检测期间每 8 个样本采集 1 次 QC, 将 QC 样品总离子流图重叠, 观察样品的保留时间及相应强度, 评估样品质量。

2.8 统计学方法

生化指标数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 分析采用 Graphpad 8.0 进行统计分析, 2 组间比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计意义。

肝组织脂质组学采用 Waters 公司商业化软件 Progenesis QI 对质谱数据进行预处理, 完成数据分析峰对齐、峰提取、归一化等。数据经初步匹配后, 采用 EXCEL 进行数据前处理, 首先控制数据质量, 方法是以空白组为参照, 以 80% 原则为准, 删除空值超出 80% 的变量, 以 QC 组为样本统计变量, 删去 QC 组中变异系数 >30% 的变量。其次对数据进行以 2 为底的对数变换。预处理后, 采用 SIMCA 14.1 进行偏最小二乘 - 判别分析 (PLS-DA) 分析数据, 获得得分散点图, 分析高脂饮食对实验大鼠肝组织脂质代谢的影响。HMDB 数据库对潜在的标志物变量进行鉴定。MetaboAnalyst 5.0 数据处理平台进行通路富集分析, 并通过 KEGG 数据库检索、文献比对等方法对潜在的生物标志物进行代谢通路及生物意义分析。

3 结果

3.1 高脂饮食对大鼠一般行为的影响

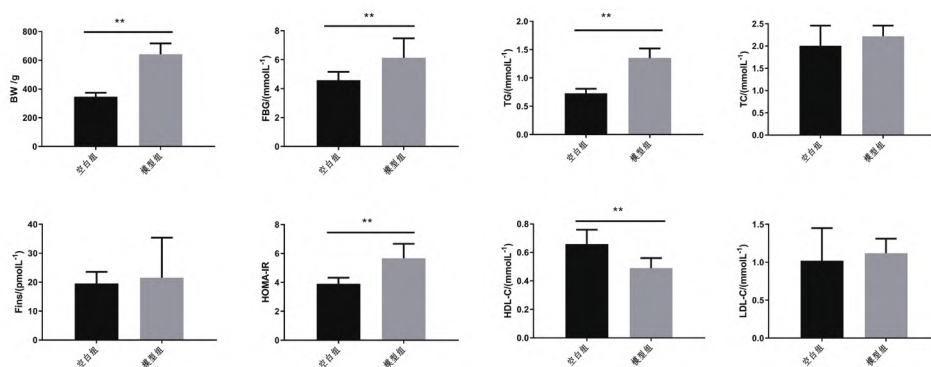
正常组大鼠毛色洁白、有光泽, 活动较频繁且灵敏。模型组大鼠从实验中、后期开始, 出现一定程度的精神萎靡, 毛色暗黄无光, 食欲较差, 活动减少且缓慢, 腹部膨胀。正常组与模型组大鼠的尿液、粪便颜色无明显差异。

3.2 高脂饮食对大鼠血糖、血脂等相关指标的影响

结果显示, 与空白组比较, 高脂饲料干预 28 周后, 大鼠体重 BW、FBG、HOMA-IR 水平升高, 且具有显著性意义。与空白组比较, 高脂干预大鼠 Fins 水平提高, 但是没有统计学意义。与空白对照组比较, TG 显著增加, HDL-C 水平降低, TC、LDL-C 水平增加但无统计学意义。见图 1。

3.3 油红 O 染色评价高脂饮食对肝脏脂质沉积的影响

结果显示, 空白组肝细胞形态正常, 无明显油滴, 不存在明显的脂质沉积; 模型组肝细胞具有正常细胞形态, 背景为被油红染色的油滴, 肝存在显著的脂质沉积。见图 2。



注：与空白组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图1 高脂饮食对大鼠血糖、血脂相关指标的影响

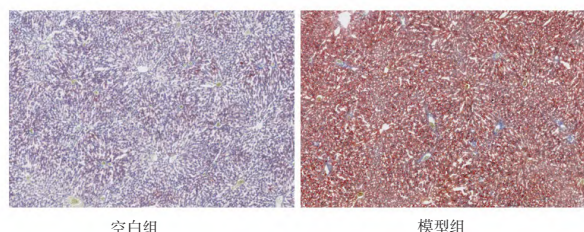
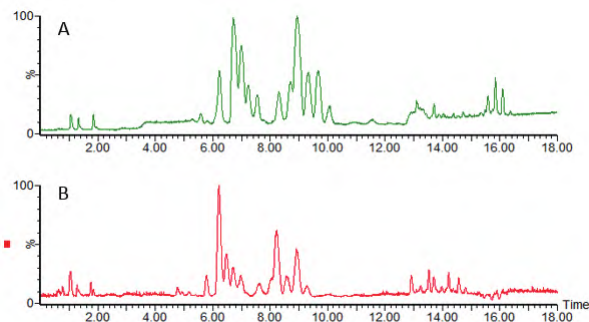


图2 高脂饮食对大鼠肝脏脂肪沉积的影响 ($\times 40$, 标尺 = $100 \mu\text{m}$)

3.4 脂质组学研究结果

3.4.1 肝组织样品总离子流图



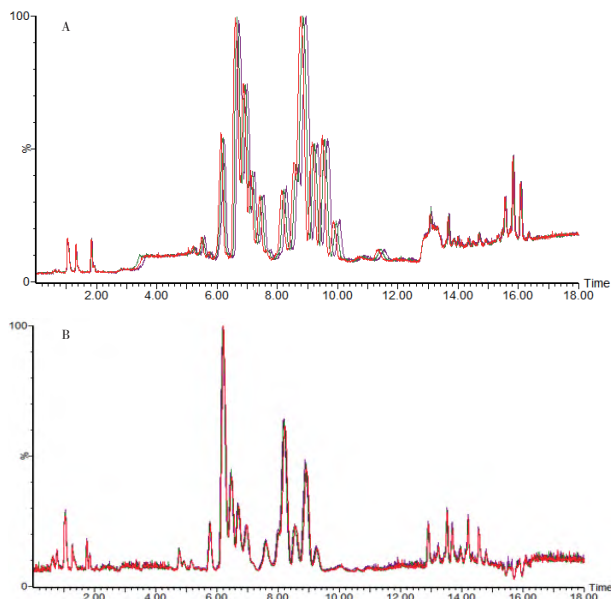
注：A.正模式；B.负模式。

图3 QC样本总离子流图

对 QC 样品进行正、负离子模式脂质代谢物检测，含有较多离子峰、主要样品峰响应强度高，分离效果好，说明液相和质谱方法条件适合肝脏脂质组样品检测。见图 3。

3.4.2 样品及仪器稳定性

图 4 A 中为 QC 样品正模式的总离子流图，图中峰响应强度相似，但是峰重叠性不高，保留时间差异较大，数据质量较差。图 4 B 中 QC 样品负模式的总离子流图中曲线重叠性高，说明保留时间和峰强度一致，表明同一样品不同时间检测时，信号较稳定。以上结果表明，负模式脂质组学数据质量较高，因此采用负模式数据进行脂质组学分析。

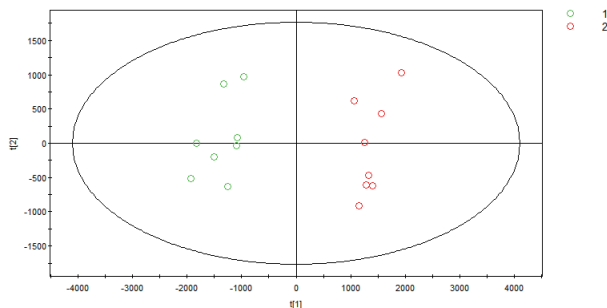


注：A.正模式；B.负模式。

图4 QC样本总离子流重叠图

3.5 PCA

基于脂质组样品负模式数据，对空白组、模型组进行 PCA 分析，获得其得分散点图。该模型 R_2X 为 0.75， Q_2 为 0.633，说明该模型能够表征质谱多数，能够反映肝组织客观信息。空白组、模型组样本点没有重合，正常组与模型组整体状态存在明显的差异，说明高脂饮食改变了大鼠肝脏组织中脂质代谢整体状态。见图 5。



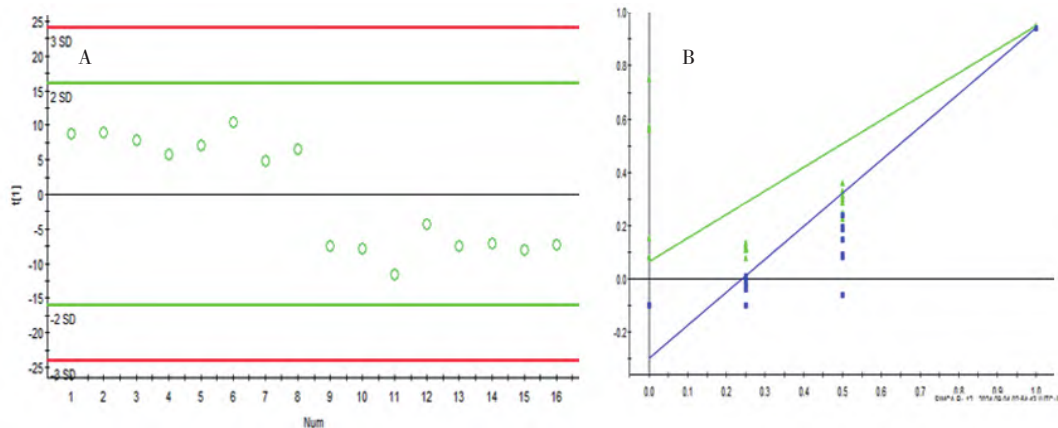
注：1.空白组；2.模型组。

图5 得分散点图

3.6 差异代谢标志物分析

采用 t 检验筛选差异代谢物变量, 然后基于差异代谢变量构建 PLS-DA 模型, 深入探索其脂质代谢标志物。结果基于 t 检验发现 93 个特征变量, PLS-DA 模型 R_2X 、 R_2Y 及 Q_2 值分别为 0.699、0.948 和 0.940, 模型有效性较高。为了避免 PLS-DA 模

型过拟合, 采用 20 倍 Permutation test 对模型进行有效性检验, 结果显示, R_2 、 Q_2 具有较大的斜率, 且 R_2 的截距为 0.05, Q_2 的截距小于 0, 结果说明模型不存在过拟合, 基于此模型可以有效的脂质代谢标志物。见图 6。



注: A.得分散点图; B.Permutation 检验。

图6 PLS-DA主成分图

3.7 潜在脂质代谢标志物分析

基于 PLS-DA 模型, 以变量重要性系数 (VIP) 大于 1, 变量相关性系数 (P) 绝对值大于 0.9 为标准, 共筛选 29 个脂质标志物变量。其中 19 个变量在模型组下降, 其余 10 个变量在模型组上升。依

据其峰面积及在空白组与模型之间的相对值, 绘制热图。结合 HMDB 数据库物质信息及文献中脂质标准物质出峰顺序, 初步鉴定高脂饮食大鼠代谢标志物。见表 1。

表1 潜在脂质标志物

编号	保留时间 /min	m/z	VIP	P	标记物
M01	4.60	907.529 5	1.18	0.98	PE (LTE4/20 : 2)
M02	6.47	861.548 3	1.20	0.98	PG (PGF2VI/21 : 0)
M03	5.65	847.531 4	1.20	0.98	PG (PGF2VI/20 : 0)
M04	4.33	784.490 6	1.20	0.96	PE (22 : 6/18 : 3)
M05	6.11	902.587 5	1.14	0.96	PC (22 : 3/PGJ2)
M06	6.46	1619.106 0	1.17	0.96	未知
M07	11.83	770.568 5	1.14	0.95	PC (18 : 2/17 : 0)
M08	4.96	833.517 3	1.16	0.95	PG (PGF2VI/19 : 0)
M09	4.21	857.515 9	1.19	0.94	PG (20 : 5/19 : 0)
M10	4.49	881.516 7	1.10	0.94	PI (18 : 1/20 : 3)
M11	4.51	764.521 4	1.20	0.94	PC (20 : 4/15 : 0)
M12	5.08	859.531 3	1.14	0.94	PG (PGD2/19 : 0)
M13	4.68	806.495 9	1.12	0.93	PC (22 : 6/14 : 1)
M14	5.53	898.487 3	1.15	0.93	PS (22 : 6/20 : 5)
M15	6.43	929.534 7	1.12	0.93	PE (LTE4/P-18 : 1)
M16	0.88	595.287 8	1.12	0.92	LysoPI (18 : 2/0 : 0)
M17	4.98	901.509 6	1.11	0.92	PGP (20 : 4/20 : 2)
M18	4.93	1663.076 0	1.07	0.91	未知
M19	4.49	949.502 7	1.04	0.90	PS (LTE4/20 : 3)
M20	1.06	1001.561 0	1.05	-0.90	lysoPE (20 : 4/0 : 0)
M21	1.07	585.254 6	1.09	-0.91	tetrahydroaldosterone-3-glucuronide
M22	6.04	773.577 7	1.09	-0.92	SM (d19 : 1/18 : 1)
M23	13.27	877.698 4	1.13	-0.92	SM (d18 : 1/26 : 0)
M24	1.06	1023.543 0	1.09	-0.93	未知
M25	11.43	636.556 0	1.10	-0.93	未知
M26	8.58	608.524 9	1.09	-0.93	Cer (d18 : 1/18 : 1)
M27	13.27	945.685 8	1.13	-0.93	TG (18 : 1/18 : 0/18 : 4)
M28	1.75	283.263 7	1.15	-0.95	3-methylheptadecanoate
M29	1.07	1091.528 0	1.17	-0.97	未知

3.8 通路富集分析

将潜在生物标志物导入 MetaboAnalyst 5.0 在线网站中的 Pathway analysis 模块, 进行通路富集分析, 获取 6 条代谢通路, 分别为甘油磷脂代谢 (glycerophospholipid metabolism), 亚油酸代谢 (linoleic acid metabolism), α 亚油酸代谢 (alpha-Linolenic acid metabolism), GPI 锚钉复合物形成 (glycosylphosphatidylinositol-anchorbiosynthesis), 鞘脂代谢 (sphingolipid metabolism), 花生四烯酸代谢 (arachidonic acid metabolism)。其中甘油磷脂代谢通路显著性水平最高及影响因子最大, 表明甘油磷脂代谢是最重要的代谢通路。见图 7、图 8、图 9、表 2。

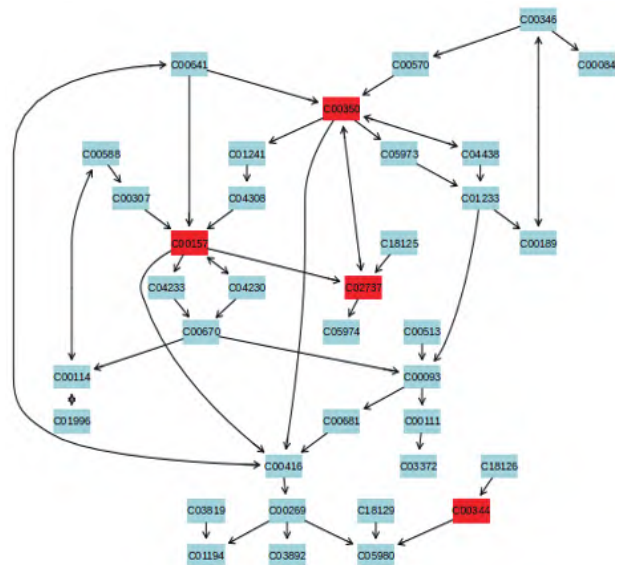


图9 甘油磷脂代谢通路及相关代谢物

表2 代谢物分析

KEGG ID	Class	Metabolite
C00350	Phosphatidyl ethanolamine	PE (LTE4/202)
		PE (22 : 6/18 : 3)
		PE (LTE4/18 : 1)
C00157	Phosphatidyl choline	PC (22 : 3/PJ2)
		PC (18 : 2/17 : 0)
		PC (20 : 4/15 : 0)
C02737	Phosphatidylserine	PC (22 : 6) /14 : 1
		PC (22 : 6) /20 : 5
C00344	Phosphatidyl glycerol	PG (PGF2VI/21 : 0)
		PG (PGF2VI/20 : 0)
		PG (PGF2VI/19 : 0)
		PG (20 : 5) /19 : 0
		PG (PGD2/19 : 0)

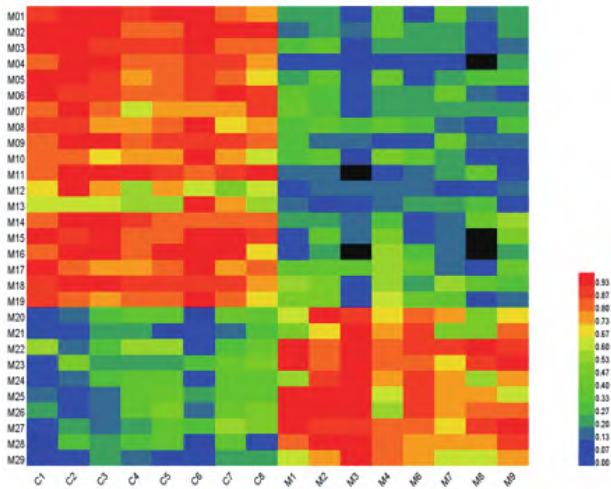


图7 脂质代谢热图

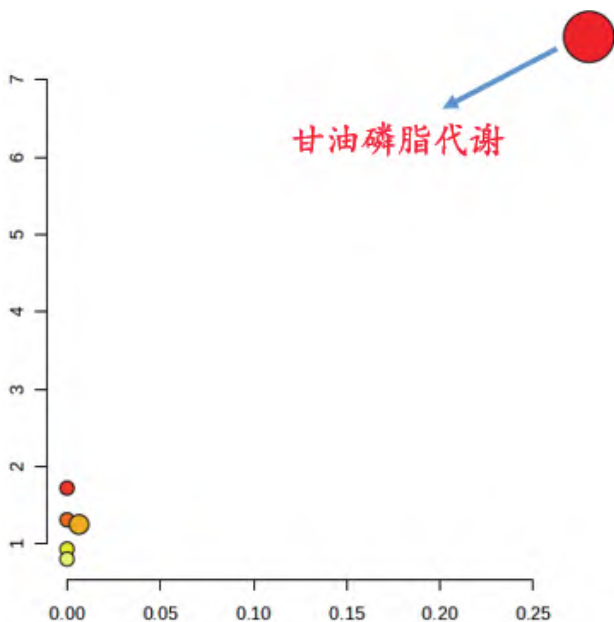


图8 脂质代谢通路

4 讨论

本研究以高脂饮食诱导代谢性脂肪肝大鼠模型, 应用脂质组学方法探索肝脏脂质代谢相关标志物及代谢通路, 阐述高脂饮食诱导代谢性脂肪肝生物机制。研究结果显示, 模型组大鼠体重、血糖、胰岛素抵抗指数、甘油三酯水平显著升高, 高密度脂蛋白显著下降实验模型符合代谢性脂肪性肝病的诊断标准^[9-10]。脂质代谢组学发现 93 个组间显著变化的变量, 筛选 29 个潜在脂质标志物, 其中 19 种物质在模型组显著下降, 下降的脂质主要包括磷脂酰胆碱、磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺等, 其余 10 个脂质标志物在模型组显著上升, 这些上升的物质主要是鞘磷脂、神经酰胺和甘油三酯类物质。对潜在脂质代谢标志物进行通路富集分析, 发

现这些标志物主要涉及甘油磷脂代谢、鞘磷脂代谢、亚油酸代谢等代谢通路。

鞘脂在细胞和血浆中的浓度变化与多种代谢紊乱密切相关^[11]。神经酰胺作为鞘脂合成的关键前体,通过不同的生物合成途径形成鞘糖脂和鞘磷脂,参与合成具有生物活性的鞘氨醇等化合物。这些代谢过程受特定转录因子调控,目前相关转录因子与肝脏脂肪积累密切相关^[12]。胰岛素抵抗导致游离脂肪酸增加,促进神经酰胺合成,影响胰岛素抵抗和脂肪肝发展^[13-14]。血清中的酸性鞘磷脂酶和神经酰胺水平升高,胆固醇水平也随之升高^[15-16]。降低鞘磷脂水平,减少小鼠的脂质积聚^[17-18]。磷脂是细胞膜的重要组成部分,对细胞结构和功能至关重要。磷脂酰胆碱合成基因缺失或蛋氨酸和胆碱缺乏的饮食加剧脂肪肝^[19-20]。MAFLD 患者肝脏中磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺水平降低^[21]。补充磷脂能减少肝脂质积累,多烯磷脂酰胆碱类药物降低血脂和肝损伤^[22-24]。机制可能与磷脂酰胆碱在调控甘油三酯合成和代谢中的关键作用有关^[25]。磷脂酰肌醇作为信号分子,其磷酸化触发内质网应激,影响脂质代谢,促进脂肪变性^[26]。本研究显示肝组织中磷脂酰肌醇水平下降,说明磷脂酰肌醇代谢可能是参与 MAFLD 脂肪变性的重要代谢机制。

通过构建高脂饮食诱导的代谢性脂肪肝模型,并运用脂质组学技术深入分析了代谢性脂肪肝的潜在生物机制。研究结果肝组织中的甘油三酯、鞘磷脂和甘油磷脂等关键脂质成分发生显著性变化。在脂毒性理论下,二酰基甘油和鞘磷脂能够促进肝脏脂肪变性。但是甘油磷脂代谢与代谢性脂肪肝之间的联系尚未被广泛探讨,深入研究甘油磷脂在代谢性脂肪肝中的作用,不仅能够丰富对脂肪肝病理机制,也可能为开发新的治疗策略提供重要的科学依据。

参考文献

- [1] YOUNOSSI Z M, GOLABI P, DE AVILA L, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Hepatol*, 2019, 71(4): 793-801.
- [2] ZHOU F, ZHOU J H, WANG W X, et al. Unexpected rapid increase in the burden of NAFLD in China from 2008 to 2018: a systematic review and meta-analysis[J]. *Hepatology*, 2019, 70(4): 1119-1133.
- [3] CHALASANI N, YOUNOSSI Z, LAVINE J E, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases[J]. *Hepatology*, 2018, 67(1): 328-357.
- [3] YOUNOSSI Z, ANSTEE Q M, MARIETTI M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(1): 11-20.
- [5] SBERNA A L, BOUILLET B, ROULAND A, et al. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD) and European Association for the Study of Obesity (EASO) clinical practice recommendations for the management of non-alcoholic fatty liver disease: evaluation of their application in people with Type 2 diabetes[J]. *Diabet Med*, 2018, 35(3): 368-375.
- [6] 王佳林, 王重阳, 李杨, 等. 饮食诱导非酒精性脂肪性肝病动物模型的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(12): 93-96.
- [7] GIL A, ZHANG W X, WOLTERS J C, et al. One- vs two-phase extraction: re-evaluation of sample preparation procedures for untargeted lipidomics in plasma samples[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(23): 5859-5870.
- [8] ISAAC G, MCMONALD S, ASTARITA G. Lipid separation using UPLC with charged surface hybrid technology[J]. *Waters Corp*, 2011(10): 1-8.
- [9] ESLAM M, SANYAL A J, GEORGE J. MAFLD: a consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(7): 1999-2014.e1.
- [11] FABBRINI E, MAGKOS F. Hepatic steatosis as a marker of metabolic dysfunction[J]. *Nutrients*, 2015, 7(6): 4995-5019.
- [10] PIPITONE R M, CICCIOLO C, INFANTINO G, et al. MAFLD: a multisystem disease[J]. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 2023, 14: 20420188221145549.
- [11] BORODZICZ S, CZARZASTA K, KUCH M, et al. Sphingolipids in cardiovascular diseases and metabolic disorders[J]. *Lipids Health Dis*, 2015, 14: 55.
- [12] GRECO D, KOTRONEN A, WESTERBACKA J, et al. Gene expression in human NAFLD[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2008, 294(5): 1281-1287.
- [13] KOLAK M, WESTERBACKA J, VELAGAPUDI V R, et al. Adipose tissue inflammation and increased ceramide content characterize subjects with high liver fat content independent of obesity[J]. *Diabetes*, 2007, 56(8): 1960-1968.
- [14] ILAN Y. Compounds of the sphingomyelin-ceramide-glycosphingolipid pathways as secondary messenger molecules: new targets for novel therapies for fatty liver disease and insulin resistance[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 310(11): G1102-G1117.
- [15] GRAMMATIKOS G, MÜHLE C, FERREIROS N, et al. Serum acid sphingomyelinase is upregulated in chronic hepatitis C infection and non alcoholic fatty liver disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1841(7): 1012-1020.
- [16] YETUKURI L, KATAJAMAA M, MEDINA-GOMEZ G, et al. Bioinformatics strategies for lipidomics analysis: characterization of obesity related hepatic steatosis[J]. *BMC Syst Biol*, 2007, 1: 12.
- [17] IQBAL J, WALSH M T, HAMMAD S M, et al. Sphingolipids and lipoproteins in health and metabolic disorders[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28(7): 506-518.
- [18] HAMMERSCHMIDT P, BRÜNING J C. Contribution of specific ceramides to obesity-associated metabolic diseases[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(8): 395.
- [19] LI Z Y, AGELLON L B, ALLEN T M, et al. The ratio of phosphatidylcholine to phosphatidylethanolamine influences membrane integrity and steatohepatitis[J]. *Cell Metab*, 2006, (下转第 69 页)

- 中国中药杂志, 2021, 46(16): 4083-4088.
- [3] 周凡, 李淑萍, 贺飞, 等. 一测多评法测定藏茴香中异绿原酸 A、异绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C[J]. 药物评价研究, 2023, 46(4): 703-710.
- [4] SILVA N C, ALVAREZ A M, DEOCESANO-PEREIRA C, et al. Catalytically active phospholipase A2 myotoxin from *Crotalus durissus terrificus* induces proliferation and differentiation of myoblasts dependent on prostaglandins produced by both COX-1 and COX-2 pathways[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 187: 603-613.
- [5] XU Q, WANG M M, LI X Y, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities and action mechanisms of exopolysaccharides from *Lactiplantibacillus plantarum* Z-1[J]. *Food Biosci*, 2024, 62: 105247.
- [6] BAGDAS D, OZBOLUK H Y, CINKILIC N, et al. Antinociceptive effect of chlorogenic acid in rats with painful diabetic neuropathy[J]. *J Med Food*, 2014, 17(6): 730-732.
- [7] 任爱农, 卢爱玲, 田耀洲, 等. 层次分析法用于中药复方提取工艺的多指标权重研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 372-374.
- [8] 彭紫薇, 杨艳玲, 李花花, 等. 基于网络药理学结合层次分析法-熵权法和正交实验研究正骨洗药提取工艺[J]. 中国新药杂志, 2024, 33(17): 1813-1823.
- [9] 李莉, 杨先启, 陈军, 等. 基于响应面法结合熵权法优化浙贝母(灰贝)加工工艺[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(14): 1965-1971.
- [10] 叶喜德, 施林峰, 胡振宇, 等. 基于层次分析-熵权法结合响应面法优化麸炒芡实炮制工艺[J]. 中药材, 2024, 47(5): 1141-1146.
- [11] 张荣华, 靳梓微, 邱智东, 等. 基于基准关联度和 AHP-熵权法优化经典名方达原饮的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(3): 612-615.
- [12] 张秀芳, 张静宜, 刘明松, 等. 基于熵权法与响应面法优化香连和胃汤挥发油提取工艺[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(14): 1848-1855.
- [13] 黄露, 徐顶巧, 乐世俊, 等. 基于层次分析-熵权法和网络药理学的野马追质量标志物研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(21): 5545-5554.
- [14] 冯利梅, 陈艳琰, 乐世俊, 等. 基于层次分析-熵权法的中药质量标志物量化辨识方法研究——以芍药甘草汤为例[J]. 药学报, 2021, 56(1): 296-305.
- [15] 许伟明, 胡镜清, 江丽杰, 等. 层次分析法及其改良在确定辨证标准诊断指标权重中的应用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(10): 2027-2031.
- [16] 倪嘉挺, 王蕊娇, 董培良, 等. 基于熵权法结合 Box-Behnken 响应面法优化通窍活血汤提取工艺[J]. 中药材, 2024, 47(9): 2302-2306.
- [17] 王星栋, 李娟, 方建国, 等. 基于响应面和熵权法优选黄银颗粒的提取工艺[J]. 医药导报, 2024, 43(5): 778-785.
- [18] 包华音, 刘杨. 单因素考察和正交试验结合优选黄芪药材蛋白质提取工艺[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(10): 2190-2193.
- [19] 管咏梅, 陶颖, 邹成玉, 等. 苦参-黄柏药对的提取工艺研究[J]. 中国药房, 2024, 35(7): 793-800.
- [20] 王文通. 艾附暖宫颗粒的制备工艺及质量标准研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- [21] 陈晶, 王炳然, 张森, 等. 基于 Box-Behnken 响应面法结合层次分析法-熵权法优化米炒人参炮制工艺[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(6): 1384-1388.
- [22] 刁元元, 邱智东, 张宇航, 等. 基于基准关联度和 FAHP-熵权法综合优化经典名方保元汤提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(4): 887-891.
- [23] 罗美美, 朱伟豪, 郑琳玉, 等. Box-Behnken 响应面法优化竹沥半夏炮制工艺[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(2): 352-355.
- [24] 樊箫雨, 杨凯丽, 李花花, 等. Box-Behnken 响应面结合基准关联度和 AHP-熵权法优化经典名方半夏泻心汤的提取工艺[J]. 中草药, 2022, 53(21): 6716-6725.
- [25] 周洁, 李晔, 刘洋, 等. 不同产地艾叶中主要化学成分的研究现状分析[J]. 中草药, 2022, 53(15): 4882-4894.
- [26] 王巍, 杨武杰, 韩宇, 等. 正交实验结合 AHP 和 GA-BP 神经网络优化益黄散醇提工艺[J]. 中国药房, 2024, 35(3): 327-332.
- [27] 张婉萍, 张志远, 张冬梅, 等. 艾叶提取物的功效性能[J]. 食品与机械, 2023, 39(4): 37-43.
- [28] 朱芸芸, 郭璐娟, 陈乐, 等. 艾叶在医药领域的应用概况[J]. 中国现代中药, 2023, 25(6): 1358-1365.

(收稿日期: 2024-10-09) 编辑: 齐娅汝

(上接第 63 页)

- 3(5): 321-331.
- [20] NIEBERGALL L J, JACOBS R L, CHABA T, et al. Phosphatidylcholine protects against steatosis in mice but not non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1811(12): 1177-1185.
- [21] PURI P, BAILLIE R A, WIEST M M, et al. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*, 2007, 46(4): 1081-1090.
- [22] CAI Z N, MAI K S, AI Q H. Regulation of hepatic lipid deposition by phospholipid in large yellow croaker[J]. *Br J Nutr*, 2017, 118(12): 999-1009.
- [23] 杨亚莉, 张志强, 魏毅强. 水飞蓟宾联合多烯磷脂酰胆碱治疗非酒精性脂肪肝临床研究[J]. 新中医, 2020, 52(19): 81-84.
- [24] 陈杨, 夏磊, 龙华. 参泽舒肝胶囊联合多烯磷脂酰胆碱胶囊治疗非酒精性脂肪肝的临床研究[J]. 转化医学杂志, 2022, 11(2): 110-113.
- [25] 陈靓, 黄强, 刘三海, 等. 五苓散联合多烯磷脂酰胆碱对非酒精性脂肪肝病的临床观察[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(6): 190-193.
- [26] QIU H, JIN M, LI Y, et al. Dietary lipid sources influence fatty acid composition in tissue of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) by regulating triacylglycerol synthesis and catabolism at the transcriptional level[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0169985.

(收稿日期: 2024-09-26) 编辑: 宋楠楠