

周媛丽, 曾筠雅, 孟婷, 等. 槲皮素对 MRCD60 纯化饲料诱导的非酒精性脂肪肝病的干预效果 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (12): 50-56.
ZHOU Y L, ZENG J Y, MENG T, et al. Effects of quercetin on non-alcoholic fatty liver induced by MRCD60 purified feed [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (12): 50-56.

槲皮素对 MRCD60 纯化饲料诱导的非酒精性脂肪肝病的干预效果

周媛丽¹, 曾筠雅², 孟婷¹, 石蕊³, 吴小马³, 黄克和^{2,3}, 甘芳^{2,3*}

(1. 江苏农牧科技职业学院, 江苏 泰州 225300;

2. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095;

3. 江苏省协同医药生物工程有限责任公司, 江苏 南京 211164)

摘要: 旨在探讨槲皮素 (quercetin, QCT) 对 MRCD60 纯化饲料诱导的小鼠非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver, NAFLD) 的干预效果。将 24 只 SPF 级健康雄性 C57 小鼠随机分为 4 组, 每组 6 只, 正常饮食小鼠作为空白对照组 (Con), MRCD60 纯化饲料喂养作为模型组 (MRCD60), MRCD60 纯化饲料和 25 mg/kg QCT 喂养作为 QCT 低剂量组 (QCT1), MRCD60 纯化饲料和 50 mg/kg QCT 喂养作为 QCT 高剂量组 (QCT2), QCT1 组和 QCT2 组在 MRCD60 喂养 3 周后再加入 QCT 继续喂养 3 周; 饲养 6 周后, 检测各组小鼠血清中丙氨酸氨基转氨酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转氨酶 (AST) 以及肝脏组织中总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG) 的含量; 苏木素-伊红染色和油红 O 染色观察大鼠肝脏组织的病理学变化; 实时荧光定量 PCR 法检测各组小鼠肝脏组织炎症相关基因肿瘤坏死因子 (TNF- α), 白介素 6 (IL-6) 和白介素 1 β (IL-1 β) mRNA 水平的变化; 免疫荧光检测各组肝脏中 F4/80 蛋白表达的变化; 免疫组化检测各组小鼠肝脏中 4-羟基壬烯醛 (4-HNE) 含量的变化。结果: 与 Con 组相比, MRCD60 组小鼠肝脏体积增大, 颜色由红润变为深棕色, 肝脏重量和肝脏指数增加, TG 和 TC 含量增加, ALT 和 AST 活性增加, 大量脂质堆积, 肝脏 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β mRNA 水平和 F4/80 蛋白含量升高, 还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量下降, 丙二醛 (MDA) 和 4-HNE 含量升高; 与 MRCD60 组相比, QCT1、QCT2 组均显著减少肝脏脂质堆积, 抑制肝脏炎症, 降低肝脏氧化应激。综上, QCT 可以改善 MRCD60 纯化饲料诱导的 NAFLD 小鼠肝脏脂质沉积、病理损伤、肝脏炎症和氧化应激。

关键词: 非酒精性脂肪肝; MRCD60; 槲皮素

中图分类号: S856 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)12-0050-07

Effects of quercetin on non-alcoholic fatty liver induced by MRCD60 purified feed

ZHOU Yuanli¹, ZENG Junya², MENG Ting¹, SHI Rui³, WU Xiaoma³, HUANG Kehe^{2,3}, GAN Fang^{2,3*}

(1. Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China;

2. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

3. Jiangsu Synergetic Biological Engineering Co., Ltd., Nanjing 211164, China)

Abstract: To investigate the effect of quercetin (QCT) on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) induced by MRCD60 purified feed, a total of 24 healthy male C57 mice with SPF grade were obtained and randomly divided into 4 groups with 6 mice in each group. The mice of the control group (Con) were fed with normal diet, and those of the model group (MRCD60) were fed with MRCD60 purified feed. Those of the QCT1 group were fed with MRCD60 purified feed and 25 mg/kg QCT. Those of the QCT2 group were fed with MRCD60 purified feed and 50 mg/kg. MRCD60 feeding for the QCT1 and QCT2 groups continued for 3 weeks and then QCT was added to the feed for another 3 weeks. After 6 weeks of experiment, the contents of ALT and AST in the serum and TC and TG in liver tissue samples collected from the mice were detected. Pathological changes in liver were observed by hematoxylin-eosin and oil red O staining. Real-time PCR was used to detect the mRNA levels of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in liver. The expression of F4/80 protein in liver was detected by immunofluorescence. The content of 4-HNE in liver was detected by immunohistochemistry. The results were as follows: compared with the control group, the color changed from red to dark brown, and the liver volume, liver weight and liver index were increased in the MRCD60 group. MRCD60 feeding

收稿日期: 2024-05-15; 修回日期: 2024-10-11

基金项目: 江苏省产学研合作项目 (BY20230700)

第一作者: 周媛丽, 女, 硕士, 讲师

* 通信作者: 甘芳, 副教授, 主要从事动物营养代谢病的研究, E-mail: ganfang@njau.edu.cn。

increased TG and TC contents in liver, serum ALT and AST activities of the organ, increased a large amount of lipid accumulation in the organ, increased its TNF- α , IL-6 and IL-1 β mRNA levels and F4/80 protein contents. Also, MRCD60 feeding decreased GSH content in liver, but increased its MDA and 4-HNE contents. QCT supplementation at doses of 25 and 50 mg/kg significantly reduced lipid accumulation in liver, inhibited liver inflammation and reduced liver oxidative stress. In conclusion, QCT improved NAFLD induced by MRCD60 purified feed.

Keywords: NAFLD; MRCD60; quercetin

非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是指在没有过量摄入酒精或其他明确的能导致肝脏脂肪变性的因素作用下, 导致的脂肪在肝脏堆积, 进而产生以肝细胞弥漫性大泡性脂肪变性为主要病变的临床病理综合征^[1]。NAFLD 主要发生在人、鸡、奶牛、犬、猫等动物。NAFLD 的发生取决于多种因素的综合作用, 如脂代谢异常、炎症、氧化应激和内质网应激等^[2-3]。目前治疗 NAFLD 主要包括改变生活方式、控制饮食、抗氧化剂、降脂减肥剂, 护肝抗炎药及辨证论治选取的中药汤剂等。

槲皮素 (quercetin, QCT) 是一种天然的类黄酮和食品添加剂, 广泛存在于许多水果、花卉和蔬菜中^[4]。枇杷、红枣和荞麦等药材中也存在 QCT。QCT 具有抗癌、抗氧化、抗炎、抗病毒等生物学功能^[5-6]。由于上述药理作用, QCT 越来越受到人们的关注。Cao 等^[7]研究表明 QCT 可通过 AMPK 介导的线粒体自噬改善高脂饲料诱导的 NAFLD。杨佳敏^[8]研究表明灌喂 QCT 可减轻高脂饲料 (60%) 引起的肝脏脂质沉积和肝脏损伤。Marcolin 等^[9]研究发现 QCT 可改善 MCD 饲料诱导的脂肪肝炎。但目前关于 QCT 在 NAFLD 上的研究是集中在由高脂饲料饲喂诱导 8 周、12 周甚至 16 周建立^[10], 抑或由 MCD (蛋氨酸胆碱完全缺乏饲料) 饲喂 4 周到 6 周建立^[11], 试验周期较长。

蛋氨酸胆碱限制性缺乏高脂饲料 MRCD60 是结合 MCD 和高脂饲料的优点研发的 NAFLD 模型的纯化饲料, 前期研究表明 XTMRCD60 可在第 3 周引起脂肪肝, 第 6 周引起脂肪肝炎, 第 8 周引起肝脏纤维化, 可缩短造模和药物防治研究试验时间。因此, 本研究将利用 XTMRCD60 纯化饲料建立小鼠 NAFLD 模型, 探究 QCT 对 NAFLD 的改善效果, 为 XTMRCD60 在 NAFLD 造模中的推广应用及槲皮素防治 NAFLD 相关研究提供试验基础和理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物及 NAFLD 模型饲料

SPF 级健康雄性 C57 小鼠 26 只 (200~230 g) 购买于南京卡文斯生物技术有限公司, 经检验合格后饲养于南京农业大学实验动物中心, 条件为: 室温

20~25 °C, 湿度 70%, 分笼饲养, 自由饮食饮水, 12 h 明暗交替。

MRCD60 纯化饲料由江苏省协同医药生物工程有限责任公司提供, 其热量组成: 蛋白质 23.1%, 碳水化合物 27.6%, 脂肪 35.7%, 日粮 22.2 kJ/g。

1.2 动物分组及模型建立

小鼠适应性饲养 1 周后, 遵循体重随机均分原则分为以下 4 组: 正常对照组 (Con), 普通饲料喂养; 模型组 (MRCD60), MRCD60 饲料喂养; QCT 低剂量组 (QCT1), MRCD60 和 25 mg/kg QCT 饲喂; QCT 高剂量组 (QCT2), MRCD60 和 50 mg/kg QCT 饲喂。QCT1 组和 QCT2 组于 MRCD60 饲喂第 3 周后开始灌胃 QCT, 每天 1 次, 共 3 周, 并继续饲喂 MRCD60, 其余组予以蒸馏水灌胃作为对照处理。本研究获得南京农业大学实验动物保护伦理委员会的批准 [许可证编号: SYXK (苏) 2021-0086]。

1.3 样品采集

第 6 周饲养结束后, 小鼠眼球采血并迅速将血液滴入 1.5 mL 离心管中。采集好的血液标记好后倾斜放入 37 °C 恒温箱 1 h, 用 4 °C 冷冻离心机以 3 000 r/min 离心 15 min, 吸取血清分装两个离心管中, 做好标记, 保存于 -80 °C 冰箱待测。

采血结束后使用剪刀和镊子小心剥离肝脏周围系膜, 完整取出肝脏后称量肝脏重量, 随后在生理盐水中轻轻晃动, 冲洗掉表面血渍, 用滤纸吸干后, 放在测量板上拍照。用新手术刀片切取大小约 0.2~0.3 cm²的组织块, 置于 4% 多聚甲醛固定, 其余肝组织分装成两份, 先置于液氮中速冻, 然后保存于 -80 °C 冰箱待测。肝脏指数 = 肝脏湿重 (g) / 小鼠终重 (g) × 100%。

1.4 肝脏指标测定

血清中天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 和丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 活性用南京建成试剂盒进行检测。将采集的肝脏样本从 -80 °C 超低温冰箱中取出, 置于保温泡沫箱中备用。组织剪取在冰上进行, 尽量减少样本融化。准确称取 10 mg 左右肝组织并记录, 按重量 (g) : 体积 (mL) = 1 : 9 的比例, 加入 9 倍体积的无水乙醇作为匀浆介质, 置于研磨仪中进行低温匀浆。2 500 r/min 离心 10 min 后, 取上清液待测。按

照试剂盒说明书操作,及时测定 OD 值,计算出总胆固醇 (TC) 和总甘油三酯 (TG) 含量。小鼠肝脏中丙二醛 (MDA) 和还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量的测定采用商品化的检测试剂盒 (南京建成生物科技有限公司)。按照各试剂盒内说明书规定的操作步骤进行测定。在说明书规定的波长下检测各样本的 OD 值,通过说明书给出的公式计算获得小鼠肝脏中 MDA 和 GSH 的含量。

1.5 苏木精-伊红 (HE) 染色

将组织漂浮于固定液中,固定 24~48 h,固定完成后在不同浓度的酒精内梯度脱水,再放入甲苯中进行透明;在 60 °C 的石蜡浸蜡 2~2.5 h 和 (57±1) °C 石蜡进行包埋,室温冷却后修块、切片至 4 μm 厚度;包埋完成后用二甲苯 I、二甲苯 II 脱蜡,再在 100%、95%、85%、75% 酒精梯度复水;然后苏木精染色 5~10 min,水洗 3 次;1% 盐酸酒精分化 5 s,水洗 2 次;伊红染色 5 min,水洗 2 次;染色完成后,在 85%、95%、100% 浓度酒精梯度脱水各 1 min,二甲苯透明 15 min;最后中性树脂封片后,使用显微镜观察并拍照记录。

1.6 油红 O 染色

首先按照说明书配制油红 O 染色液储备液 (4 °C 避光保存) 和工作液 (现配现用);其次制作冷冻切片,用多聚甲醛固定、换不同浓度蔗糖溶液沉底进行脱水、切片 (10 μm);然后室温回温冻存的切片,蒸馏水浸洗,60% 异丙醇浸洗 2 min,油红 O 工作液染色 2~5 min,60% 异丙醇调色,调色结束后,立即水洗,苏木精复染 (1 min 以内),盐酸酒精分化 1~5 s,最后流水反蓝;最后甘油明胶封片后,使用显微镜观察并拍照记录。

1.7 荧光定量 PCR

根据已发表的小鼠肿瘤坏死因子 (TNF-α),白介素 6 (IL-6) 和白介素 1β (IL-1β) 基因和 GAPDH 内参基因序列,用 Primer Premier 设计引物,引物序列见表 1。

肝脏总 RNA 提取采用 TRIzol 试剂盒 (TaKaRa, China) 按照说明书操作进行提取,然后采用 DNA-free kit 试剂盒 (TaKaRa, China) 去除潜在的 DNA 污染,最后通过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳和蛋白核酸测定仪检测所提取 RNA 的质量和浓度。相关基因 mRNA 水平采用 SYBR Green I 染料,参照文献方法在 ABI Prism Step One Plus detection system (Applied Biosystems, USA) 荧光定量 PCR 仪上进行扩增分析。基因 mRNA 水平均以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 为内参基因按 $\Delta\Delta Ct$ 法进行分析比较,结果用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物信息

名称	引物序列 (5'→3')	产物大小/bp
GAPDH	F: AGCTCGGTGTGAACGGATT	81
	R: CAACAATCTCCACTTTGCCACT	
TNF-α	F: ATGTCTCAGCCTCTTCTCATTTC	179
	R: GCTTGTCACCTCGAATTTTGAGA	
IL-1β	F: TCGCAGCAGCACATCAACAAGAG	118
	R: TGCTCATGTCTCATCTCTGGAAGG	
IL-6	F: CCACTTCACAAGTCGGAGGCTTA	113
	R: TGCAAGTGCATCATCGTTGTTC	

1.8 免疫荧光

石蜡包埋肝脏切片 (4 μm) 脱蜡脱水,柠檬酸缓冲液处理,用稀释的山羊血清孵育 30 min;然后用 F4/80 (1:500, ab300421, Abcam, Cambridge, MA) 抗体在 4 °C 下孵育过夜;用 PBS 洗涤 3 次,加入荧光标记的二抗,37 °C 孵育 1 h;最后将 DAPI 工作液滴加到组织切片上,室温孵育 5 min,再用 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min,最后将做好的荧光标本片立即进行扫描拍照。

1.9 免疫组化

将 4 μm 的组织切片放入二甲苯中溶解蜡质,然后使用浓度梯度乙醇进行去蜡、脱水;使用 1×柠檬酸 (pH = 6.0) 作为修复液,高温高压进行抗原修复;将切片放入 3% H₂O₂ 溶液中,室温孵育 20 min 进行内源性酶阻断;使用 10% 山羊血清封闭组织切片,37 °C 孵育 30 min;甩去切片上多余的血清,在组织上滴加 4-羟基萘烯醛 (4-HNE) 抗体工作液,4 °C 孵育一抗;使用 HRP 酶标记的二抗,滴加在组织上,37 °C 孵育 1 h 后用 PBST 洗片子,洗涤 3 次,每次 5 min;滴加 DAB 显色液至组织切片上,然后置于显微镜下观察,待出现特异性棕色表达后,洗去 DAB 显色液,将切片浸泡在水中显色;苏木素复染、0.5% 盐酸乙醇液分化、浓度梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树脂封片后置于显微镜下观察并拍照记录。

1.10 数据统计与分析

采用 SPSS 对所有数据进行显著性分析。结果以“平均数±标准误”表示。两组间采用独立样本 *t* 检验比较差异。在两组以上之间,采用单因素方差分析和 Duncan's 多极差检验来比较差异,以 *P* < 0.05 表示差异显著。

2 结果

2.1 槲皮素对 MRCD60 饲喂小鼠肝脏形态和功能的影响

如图 1 所示,MRCD60 组可见小鼠肝脏体积增

大,边缘钝圆,呈深棕色,肝脏重量增加,肝脏指数增加,ALT和AST升高。与MRCD60组相比,QCT1组肝脏外观和肝脏指数没有显著变化,但肝脏重量、ALT和AST活性显著降低($P<0.05$);QCT2组肝脏体积变小,棕色有所减轻,并显著降低了肝脏重量、

肝脏指数、ALT和AST活性($P<0.05$),表明MRCD60饲料造模6周改变了肝脏形态,引起了肝功能损伤,QCT干预后可改善MRCD60引起的上述变化,但未能恢复到正常水平。

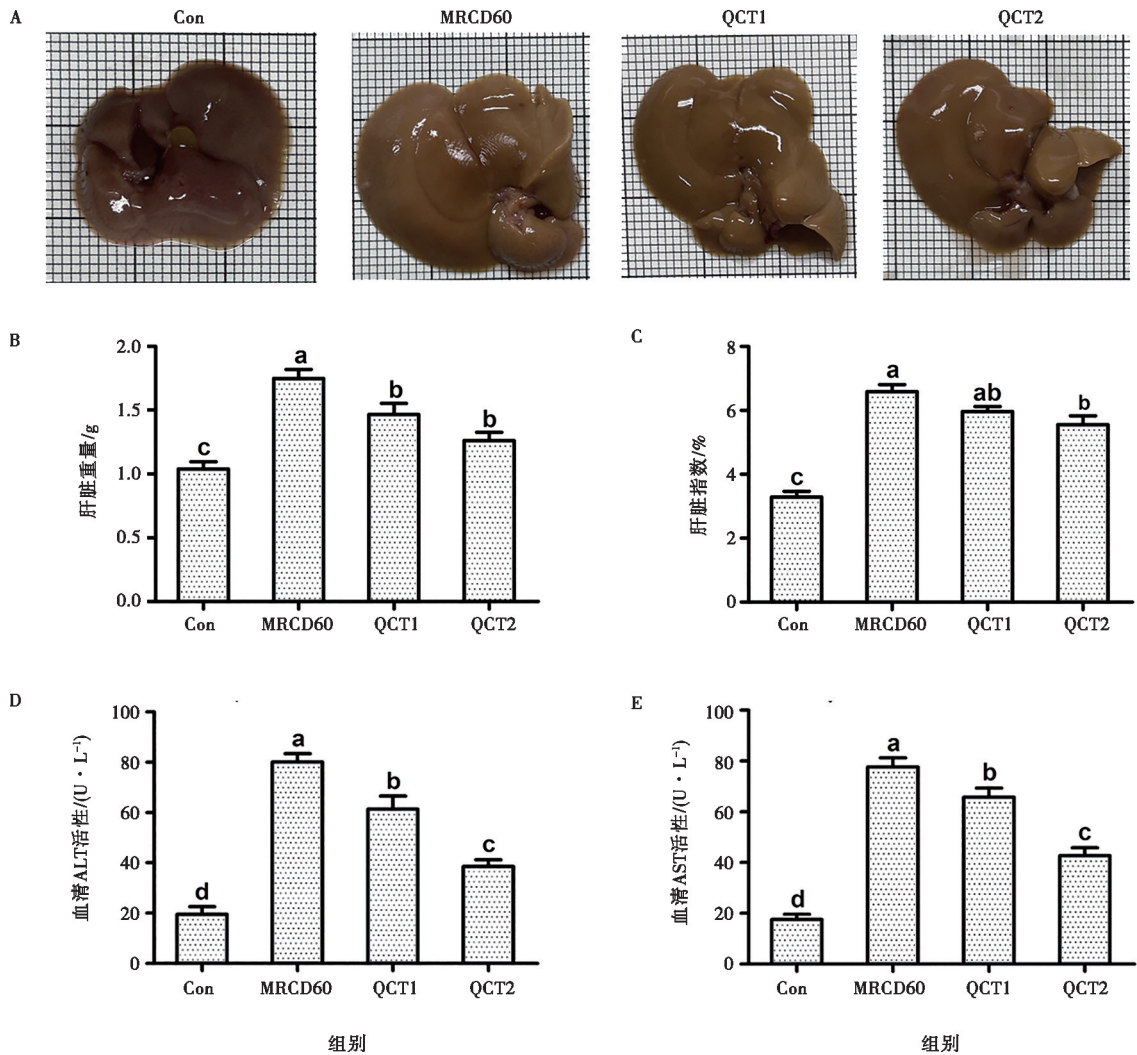


图1 槲皮素对MRCD60饲喂小鼠肝脏形态和功能的影响。A. 肝脏大体解剖,最小方格面积为1 cm²; B. 肝脏重量; C. 肝脏指数; D. 血清ALT活性; E. 血清AST活性。柱形图上方不同字母表示差异显著($P<0.05$),相同字母表示差异不显著($P>0.05$),下同。

图1 槲皮素对MRCD60饲喂小鼠肝脏形态和功能的影响

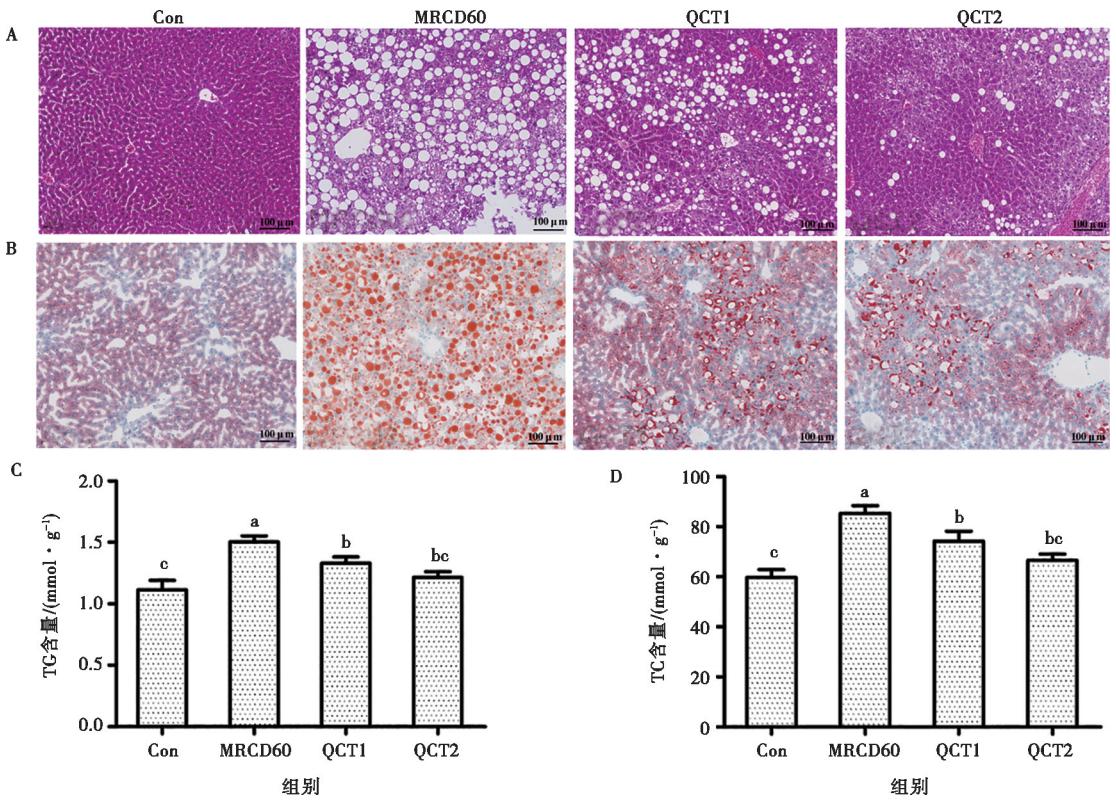
2.2 槲皮素对MRCD60饲喂小鼠肝脏脂质沉积的影响

如图2所示,HE染色显示MRCD60组可见大小不等的圆形脂滴充满整个视野,同时存在炎症细胞的浸润;油红染色结果MRCD60组可见肝脏存在大量红染的脂滴;MRCD60组可显著提高肝脏TG和TC的含量($P<0.05$)。QCT1和QCT2组干预后均可显著减少肝脏脂滴的堆积,减少TG和TC的含量,且QCT2组干预效果优于QCT1组,其可将TG和TC降

至正常水平。

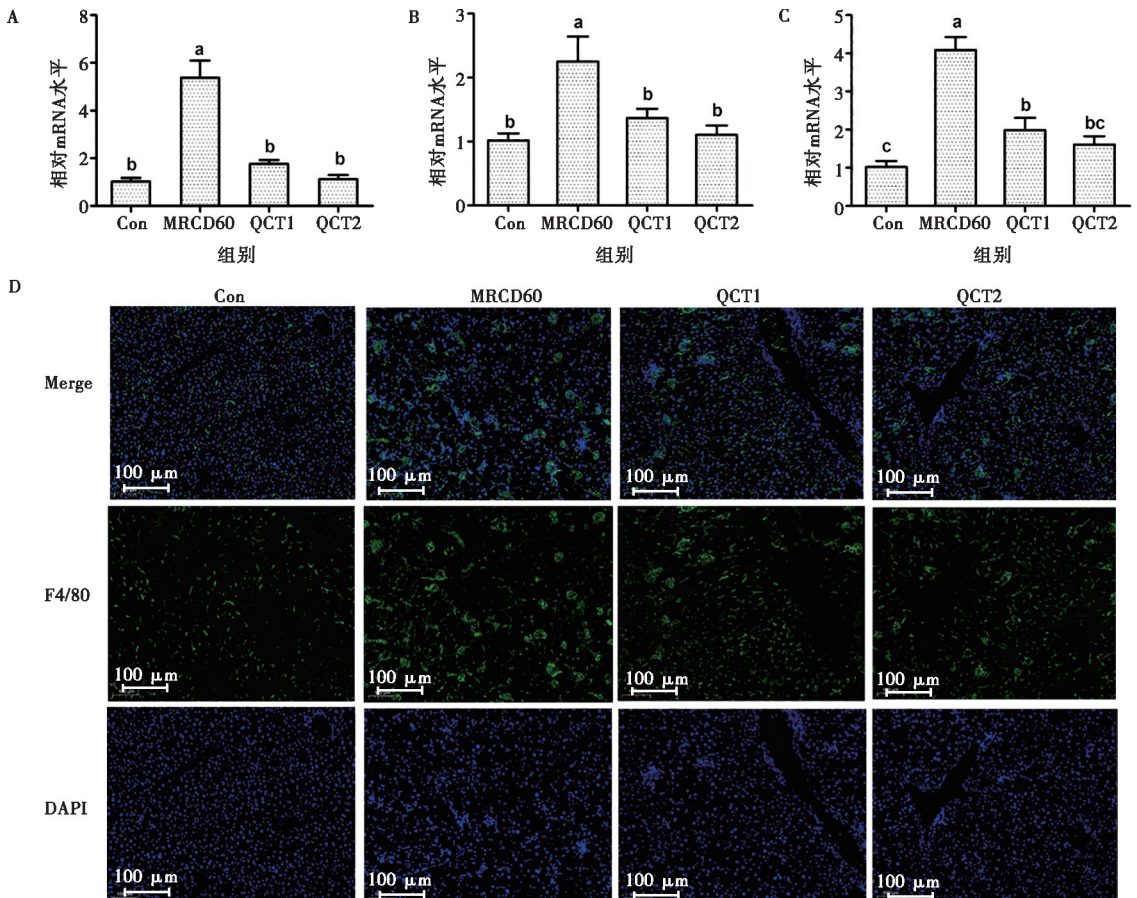
2.3 槲皮素对MRCD60饲喂小鼠肝脏炎症的影响

为了进一步探究槲皮素对MRCD60饲喂小鼠肝脏炎症的影响,检测了肝脏IL-6、IL-1 β 和TNF- α mRNA水平和F4/80蛋白水平。如图3所示,与Con组相比,MRCD60组可显著提高IL-6、IL-1 β 和TNF- α 的mRNA水平和F4/80蛋白表达;与MRCD60组相比,QCT1和QCT2组干预均可显著降低上述炎症因子的表达($P<0.05$)。



A. HE 染色; B. 油红 O 染色; C. 肝脏 TG 含量; D. 肝脏 TC 含量。

图 2 檫皮素对 MRCD60 饲喂小鼠肝脏脂质沉积的影响



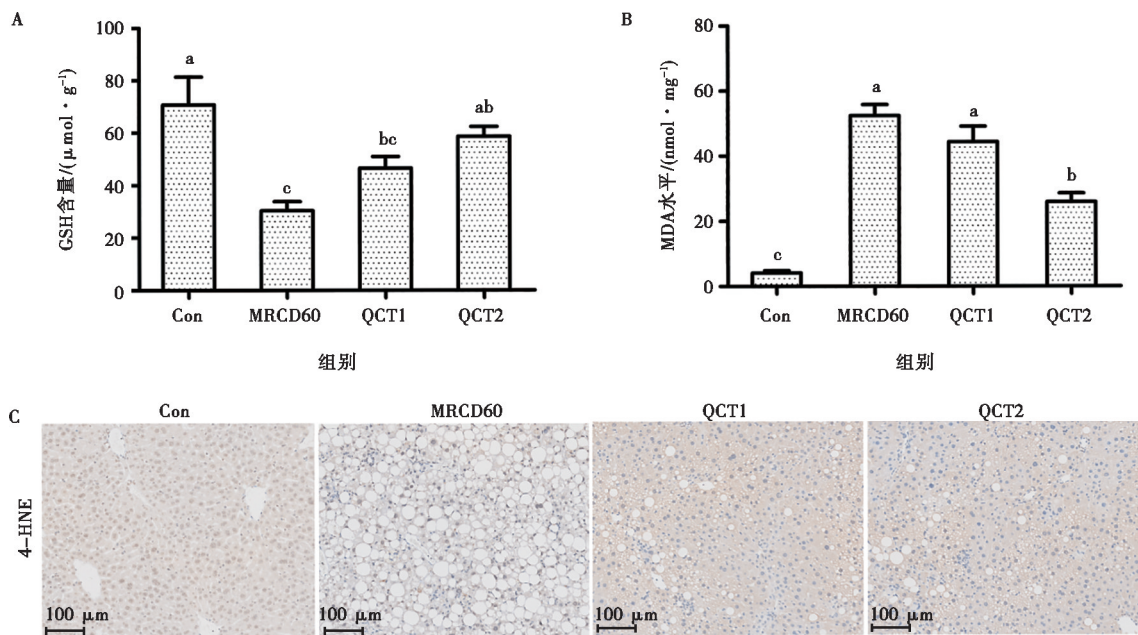
A. TNF-α mRNA 水平; B. IL-6 mRNA 水平; C. IL-1β mRNA 水平; D. F4/80 蛋白表达。

图 3 檫皮素对 MRCD60 饲喂小鼠肝脏炎症因子表达的影响

2.4 槲皮素对 MRCD60 饲喂小鼠肝脏抗氧化能力的影响

检测小鼠肝脏 GSH、MDA 和 4-HNE 蛋白的含量来评估其抗氧化能力。结果如图 4 所示, 与 Con 组相比, MRCD60 组 6 周可显著提高降低肝脏 GSH 含

量, 提高 MDA 和 4-HNE 含量; 与 MRCD60 组相比, QCT2 组干预可显著提高 GSH 含量, 降低 MDA 和 4-HNE 水平 ($P < 0.05$), 表明添加 QCT 可提高 MRCD60 小鼠肝脏抗氧化能力。



A. GSH 含量; B. MDA 含量; C. 4-HNE 表达。

图 4 槲皮素对 MRCD60 饲喂小鼠肝脏抗氧化能力的影响

3 讨论

研究 NAFLD 防治措施的基础是要合理选择能稳定建立 NAFLD 的动物模型。目前, NAFLD 动物模型构建方法主要有特殊药物诱导法、营养失调法 (如高脂饮食和蛋氨酸胆碱缺乏) 和基因干预法等^[12]。由于过度摄取高脂肪食物是现代生活方式的重要特征, 因此高脂饮食法已成为最常用的诱导 NAFLD 动物模型的方法^[13]。但高脂饮食造模方式可通过调节脂质的含量控制造模速度, 脂质含量过低会延长造模时间, 脂质含量过高又会容易导致适口性不好, 动物容易出现拒食与腹泻, 最终导致造模不理想。MRCD60 造模纯化饲料结合了 MCD 造模快和高脂饲料脂肪造模符合人类和动物摄食的特征, 其摄入 3~4 周就可引起单纯脂肪肝, 6 周可引起非酒精脂肪肝炎和轻微的纤维化, 8 周纤维化程度加重。因此, 本研究应用 MRCD60 诱导小鼠 NAFLD 研究 QCT 对 NAFLD 的改善效果。

QCT 是众多中草药发挥生物学治疗效应的主要成分, 如柴胡、桑叶、赶黄草和银杏等。目前, 有研究利用 MCD 饲喂建立 C57BL/6J 小鼠 NAFLD 模型并

利用低剂量 (20 mg/kg)、高剂量 (80 mg/kg) 的 QCT 灌胃 4 周后, 发现 QCT 能改善 NAFLD^[7]。有研究应用高脂饲料喂养建立 SD 大鼠 NAFLD 模型并利用低剂量 (40 mg/kg)、中剂量 (80 mg/kg) 和高剂量 (160 mg/kg) 的 QCT 灌胃 4 周后发现 QCT 能减轻肝脏脂肪变性, 降低 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β mRNA 水平^[14]。另有研究应用高脂饲料饲喂 8 周建立 SD 大鼠 NAFLD, 并用低剂量 (25 mg/kg) 和高剂量 (50 mg/kg) QCT 继续饲喂 8 周, 发现 QCT 可改善 NAFLD 大鼠肝脏脂质沉积及病理损伤、脂代谢异常和糖耐量受损^[15]。但上述研究应用模型均为 MCD 和高脂饲料模型, 对于 QCT 在 MRCD60 诱导的 NAFLD 中的作用未见研究。

本研究应用了低剂量 (25 mg/kg) 和高剂量 (50 mg/kg) 两种浓度观察 QCT 对 MRCD60 诱导的 NAFLD 肝脏外观、肝脏功能、病理学变化、脂质沉积、炎症和抗氧化功能的影响。结果显示 MRCD60 饲喂 6 周可使肝脏体积增大, 颜色由红润变为深棕色, 肝脏重量和肝脏指数增加, TG 和 TC 含量增加, ALT 和 AST 活性增加, 大量脂质堆积, TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β mRNA 水平上升, GSH 含量下降, MDA

和 4-HNE 含量上升。这与 MCD 和高脂饲料诱导的脂肪肝模型相似^[7,15]，但造模时间比高脂饲料造模时间短。MRCD60 饲喂 3 周后，添加 25 mg/kg 和 50 mg/kg 的 QCT 继续饲喂 MRCD60 3 周后，两种剂量的 QCT 均可显著降低肝脏重量，降低血清 ALT 和 AST 活性，降低肝脏脂质沉积、TG 和 TC 含量，降低 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β mRNA 水平。然而，添加 25 mg/kg QCT 没有显著改善肝脏指数、GSH 含量、MDA 含量和 4-HNE 含量的变化，仅 50 mg/kg QCT 对其有显著改善作用。结果表明本研究中添加 50 mg/kg QCT 可显著改善 MRCD60 引起的 NAFLD，与 QCT 在高脂饲料和 MCD 诱导的 NAFLD 中的效果相似^[9, 16]。不同的是，本研究中低剂量 25 mg/kg QCT 对 MRCD60 升高的肝脏指数和氧化应激没有显著的改善作用，可能与本研究中 QCT 不是在建模初期给予，而是在建模 3 周时给予有关。

综上，本研究发现添加 50 mg/kg QCT 可显著改善 MRCD60 诱导的小鼠肝脏脂质沉积及病理学改变，抑制 MRCD60 诱导的炎症和氧化应激。本研究结果为 MRCD60 在 NAFLD 造模中的推广应用及槲皮素防治 NAFLD 相关研究提供试验基础和理论依据。

参考文献：

- [1] HAN S K, BAIK S K, KIM M Y. Non-alcoholic fatty liver disease: definition and subtypes [J]. *Clin Mol Hepatol*, 2023, 29 (suppl): S5-S16.
- [2] ARRESE M, CABRERA D, KALERGIS A M, et al. Innate immunity and inflammation in NAFLD/NASH [J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61 (5): 1294-1303.
- [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] CALABRESE E J, HAYES A W, PRESSMAN P, et al. Quercetin induces its chemoprotective effects via hormesis [J]. *Food Chem Toxicol*, 2024, 184: 114419.
- [5] XU H, LI S, LIU J, et al. Bioactive compounds from Huashi Baidu decoction possess both antiviral and anti-inflammatory effects against COVID-19 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023, 120 (18): e2301775120.
- [6] ALIZADEH S R, EBRAHIMZADEH M A. Quercetin derivatives: drug design, development, and biological activities, a review [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 229: 114068.
- [7] CAO P, WANG Y, ZHANG C, et al. Quercetin ameliorates nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) via the promotion of AMPK-mediated hepatic mitophagy [J]. *J Nutr Biochem*, 2023, 120: 109414.
- [8] 杨佳敏. 槲皮素调节 Plin1 基因表达对 NAFLD 模型小鼠脂代谢和 AMPK/SREBP1 通路的影响 [D]. 太原: 山西医科大学, 2023.
- [9] MARCOLIN E, SAN-MIGUEL B, VALLEJO D, et al. Quercetin treatment ameliorates inflammation and fibrosis in mice with nonalcoholic steatohepatitis [J]. *J Nutr*, 2012, 142 (10): 1821-1828.
- [10] PORRAS D, NISTAL E, MARTÍNEZ-FLÓREZ S, et al. Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 102: 188-202.
- [11] PISONERO-VAQUERO S, MARTÍNEZ-FERRERAS Á, GARCÍA-MEDIAVILLA M V, et al. Quercetin ameliorates dysregulation of lipid metabolism genes via the PI3K/AKT pathway in a diet-induced mouse model of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2015, 59 (5): 879-893.
- [12] NASIRI-ANSARI N, NIKOLOPOULOU C, PAPOUTSI K, et al. Empagliflozin attenuates non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in high fat diet fed ApoE^{-/-} mice by activating autophagy and reducing ER stress and apoptosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (2): 818-828.
- [13] JAHN D, KIRCHER S, HERMANN S H M, et al. Animal models of NAFLD from a hepatologist's point of view [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865 (5): 943-953.
- [14] 李剑波, 余陈欢, 王志远, 等. 槲皮素对大鼠非酒精性脂肪肝炎的治疗作用及其机制 [J]. *实验动物与比较医学*, 2017, 37 (2): 83-86.
- [15] 罗瑞熙, 王文佳, 王平, 等. 槲皮素通过调控内质网应激信号通路改善非酒精性脂肪肝大鼠肝脏损伤 [J]. *南京医科大学学报*, 2024, 44 (4): 445-454.
- [16] JIANG J, ZHANG G, ZHENG J, et al. Targeting mitochondrial ROS-mediated ferroptosis by quercetin alleviates high-fat diet-induced hepatic lipotoxicity [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 876550.