

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.23.009  
文章编号: 1005-8982 (2024) 23-0054-08

综述

## 非酒精性脂肪性肝病模型研究进展\*

高婷婷, 谭明, 陈万金, 程胜桃

(重庆医科大学 感染性疾病分子生物学教育部重点实验室, 重庆 400016)

**摘要:** 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是指除长期大量饮酒等因素导致的以肝细胞内脂质过量堆积为主要特点的一种临床病理综合征。随着NAFLD在全球范围内发病率和患病率的逐年攀升,越来越多的研究聚焦在NAFLD发病机制上,但目前报道用于NAFLD机制研究的实验模型差异较大,尤其是动物模型。因此,该综述将总结近年来已报道的NAFLD研究模型,重点阐述NAFLD的动物模型和细胞模型,为NAFLD的研究者提供参考。

**关键词:** 非酒精性脂肪性肝病; 动物模型; 细胞模型

**中图分类号:** R575.5

**文献标识码:** A

## Research progress on models of non-alcoholic fatty liver disease\*

Gao Ting-ting, Tan Ming, Chen Wan-jin, Cheng Sheng-tao

(The Key Laboratory of Molecular Biology of Infectious Diseases designated by the Chinese Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract:** Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a clinical and pathological syndrome characterized by excessive lipid accumulation in hepatocytes, excluding other factors such as long-term excessive alcohol consumption. As the global incidence and prevalence of NAFLD continue to rise annually, increasing research has focused on the disease's pathogenesis. However, the experimental models used for NAFLD research, particularly animal models, vary significantly. This review summarizes the recent progress in NAFLD research models, with a particular emphasis on animal and cell models, providing references for researchers studying NAFLD.

**Keywords:** non-alcoholic fatty liver disease; animal models; cell models

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外长期大量饮酒和其他明确的损肝因素所引起的,以肝细胞内脂质异常蓄积为主要病理改变的肝脏代谢性疾病<sup>[1]</sup>。其并非是一种独立的疾病,常伴有代谢紊乱,是导致肝硬化、肝衰竭、肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)和肝脏疾病相关死亡的主要原因之一<sup>[2]</sup>。随着NAFLD进展,肝细胞从单纯的脂肪变性逐渐进展为非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH),并伴

随肝纤维化或不伴随肝纤维化的发展<sup>[3]</sup>,进一步可发展为严重肝病如肝硬化及HCC。

选择不同的NAFLD研究模型可能会对研究结果和结论产生重要影响。不同的模型反映了NAFLD不同的发展阶段和发病机制,例如单纯脂肪堆积、脂肪性肝炎、肝硬化等。因此,选择合适的模型对准确评估疾病进程、药物疗效和制订治疗方案至关重要。本文对现有的动物模型和细胞模型进行综述,以期后续研究的模型选择提供思路。

收稿日期: 2024-05-21

\* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金(No: 82202501)

[通信作者] 程胜桃, E-mail: shengtao@cqmu.edu.cn; Tel: 023-68486780

## 1 动物模型

尽管目前尚无理想的动物模型用于 NAFLD 发病机制和病理过程研究,但随着研究的不断深入,一些 NAFLD 动物模型被陆续报道(见图 1)。高脂饮食(high fat diet, HFD)是诱导 NAFLD 的常见方法之一,通过给予实验动物高脂肪、高糖、高胆固醇等高热量饮食,可以诱导其发生 NAFLD。此外,还有一些特殊类型的饮食,如胆碱缺乏的 L-氨基酸

(choline-deficient L-amino defined, CDAA)饮食、高果糖饮食等,也被证明可以诱发 NAFLD。除以上饮食诱导模型外,基因工程模型也被用于研究 NAFLD。例如,敲除某些基因如肿瘤抑制因子结节性硬化症复合体 1(tuberous sclerosis complex 1, TSC1)、磷酸酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homologs, PTEN)等可以增加实验动物对 NAFLD 的易感性。此外,一些药物可诱导 NAFLD 到 HCC 的进展,如四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )、二乙基亚硝胺(DEN)等。

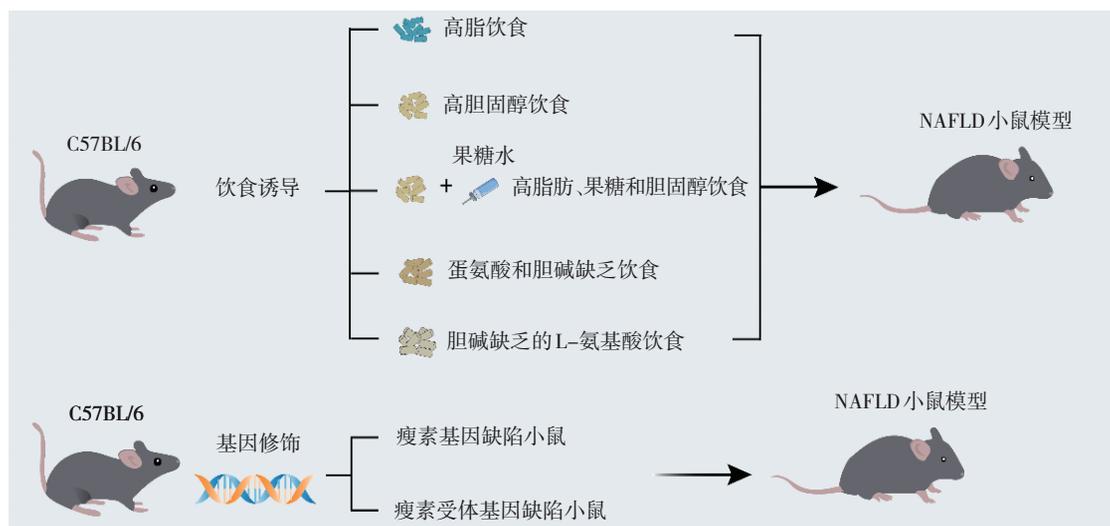


图1 NAFLD小鼠动物模型示意图

### 1.1 HFD

高脂鼠粮通常富含动物脂肪和油脂,以及高脂肪的食物添加剂。长期 HFD 会导致肝脏对脂肪的摄取量增加,影响肝脏的脂质代谢,包括脂质合成、分解和排泄等过程,导致脂质代谢紊乱。传统的 HFD 通常含有 60 Kcal% 或 45 Kcal% 的脂肪,16 周后, HFD 喂养的小鼠会出现肥胖、胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)和肝脏炎症<sup>[4]</sup>。

在我国, NAFLD 的相关研究大部分基于 HFD 诱导的小鼠模型,此模型可用于研究药物的治疗效益。郭万成等<sup>[5]</sup>予以 C57BL/6 小鼠 HFD 喂养 12 周,成功复制 HFD 诱导肥胖小鼠模型。此研究发现钠-葡萄糖共转运蛋白 2(sodium-glucose cotransporter 2, SGLT2)抑制剂达格列净可增加肝脏脂肪酸氧化的信号从而减少肝脏脂肪变性。CAO 等<sup>[4]</sup>采用高脂肪饲料(由 60% 脂肪和 20% 碳水化合物组成)饲养 6~8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠,成功复制 NAFLD 小鼠模型。该研究发现中药灵桂竹甘汤可通过抑制巨噬

细胞中干扰素基因刺激因子(stimulator of IFN genes, STING)介导的炎症从而改善 HFD 诱导的肝脂沉积。此外, RAO 等<sup>[6]</sup>将 C57BL/6 小鼠基因  $\beta 2$ -spectrin(SPTBN1)进行肝脏特异性敲除,再采用 HFD 诱导 10~12 周龄小鼠,为期 12~28 周,成功复制 NAFLD 小鼠。该研究团队发现 SPTBN1 促进了固醇调节元件结合蛋白(SREBP)刺激的脂肪生成和肝癌的发展,发现肝细胞特异性敲除 SPTBN1 可保护小鼠免受 HFD 诱导的肥胖、纤维化、脂质积累和肝脏组织损伤,表明 SPTBN1 可能是 NASH 和肝癌治疗干预的潜在靶点。

由此可见,在 HFD 诱导的小鼠模型中可观察到人类脂肪肝疾病的部分代谢参数的变化。其诱导的 NAFLD 小鼠模型可使小鼠肝脏内脂肪堆积增加,出现肝脏炎症反应,长时间诱导可能导致小鼠模型出现肝脏纤维化,其相应肝脏功能也会出现相应的异常变化。

## 1.2 高胆固醇饮食

细胞内胆固醇水平取决于胆固醇生物合成、吸收、排泄和酯化的动态平衡。一旦胆固醇失调,将会影响生物细胞的正常功能<sup>[7]</sup>。胆固醇失调在许多代谢类疾病中具有相当的重要性,有研究则采用高胆固醇饮食(high cholesterol diet, HCD)复制 NAFLD 模型。HCD 是指摄入大量胆固醇和饱和脂肪的饮食,尽管 HCD 可复制人类疾病的病理状态,但其代谢变化与人类 NASH 不同,可通过添加高脂成分加速 NASH 组织学变化的发展<sup>[8]</sup>。

高脂肪饮食诱导的 NASH 中,摄入 HCD(21% 的牛奶黄油和 0.2% 的胆固醇)被认为是肝脏炎症进展的关键危险因素<sup>[9]</sup>。不同的饮食配方可诱导不同程度的肥胖(40%~70% 脂肪热量,即 HFD)和血脂异常(0.1%~2.0% 胆固醇,即致动脉粥样硬化饮食),但是以上饮食配方的主要缺陷是,给予动物 20~30 周通常会导致血脂异常、脂肪肝和轻度非酒精性脂肪肝,但没有明显的纤维化表现<sup>[10]</sup>。只有在 HFD 或 HCD 模型中使用四氯化碳等毒素,才会使小鼠模型中纤维化的严重程度与人类 NASH(F3 及肝硬化少见)中的变化相匹配。LAURENT 等<sup>[11]</sup>采用 C57BL/6J 小鼠复制 NAFLD 模型,给予小鼠 1.25% 胆固醇、7.5% 可可脂和 0.5% 胆酸盐的致动脉粥样硬化饮食 3 周后,观察到饮食中的胆固醇成分增加了急性炎症基因的表达,6~24 周内可导致进行性脂肪变性、炎症和纤维化的发展。

高胆固醇摄入与 NAFLD 的发生、发展有一定关系,高胆固醇摄入可导致肝脂质代谢异常,诱发脂肪肝和肝脏病变。HCD 可以诱发肝脏炎症和纤维化,并加重 NAFLD 的病理进程。CHARLTON 等<sup>[12]</sup>在研究中给予 C57BL/6J 小鼠富含 0.2% 胆固醇的 HFD,并且在饮用水中添加高果糖玉米糖浆,6 个月时,小鼠表现出人类最常见的晚期 NAFLD 的所有特征,包括肥胖、代谢综合征和脂肪性肝炎。

## 1.3 高脂肪、果糖和胆固醇饮食

高脂肪、果糖和胆固醇(high fat, high fructose, and high cholesterol, FFC)饮食,即其中 40% 的能量为脂肪(12% 的饱和脂肪酸,0.2% 的胆固醇)和饮用水中的高果糖玉米糖浆。有研究采用高脂肪高碳水化合物饮食(58 Kcal%)和高果糖饮用水(55% 果糖)喂食 C57BL/6 小鼠,16 周后小鼠出现肥胖、胰岛素抵

抗和纤维化 NASH 表型<sup>[12]</sup>。FFC 饮食显示脂肪性肝炎伴有明显的肝细胞气球样变和进行性纤维化,具有高度保真的人类 NASH 组织学特征,并且与纤维化炎症、内质网应激和脂肪调亡的基因表达增加有关<sup>[12]</sup>。

辛一敬等<sup>[13]</sup>发现旋覆花汤可显著改善高脂高果糖 HCD 诱导小鼠 NASH 的脂质沉积。在该研究中采用高脂高果糖 HCD 饲料(成分:40% 脂肪热量、20% 果糖热量、2% 胆固醇)诱导 C57BL/6J 小鼠 24 周,成功复制 NASH 模型。

目前,高脂肪/高果糖饮食诱导的模型与人类 NAFLD 最相似。尽管此种饮食(即脂肪、糖和胆固醇的组成)的确切配方可能不同,但高脂肪、果糖和胆固醇饮食代表了饮食诱导的 NASH 及肥胖和代谢综合征状态下 NASH 向 HCC 转化的最相关模型。在实验动物 NAFLD 模型中,腹腔注射 CCl<sub>4</sub> 可加速纤维化和 HCC 的发展<sup>[14]</sup>。若临床前研究的重点是 NAFLD 导致的晚期肝脏疾病,可采取注射 CCl<sub>4</sub> 的高脂肪、高果糖模型。

## 1.4 蛋氨酸和胆碱缺乏饮食

NASH 动物研究中,蛋氨酸和胆碱缺乏(methionine choline deficiency, MCD)饮食被广泛采用。作为一种必需氨基酸和重要的甲基供体,MCD 饮食中的蛋氨酸在人体中具有重要作用。肝脏  $\beta$  氧化和极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)的产生与蛋氨酸和胆碱这两种成分息息相关。除此之外,胆碱被认为是一种强碱性有机物,是卵磷脂的重要组成部分和乙酰胆碱的前体。胆碱缺乏影响 VLDL 分泌,导致肝脏脂肪堆积,VLDL 合成减少<sup>[15]</sup>。有研究表明,采用 MCD 饮食喂养小鼠以诱导 NASH,导致肝脏大量脂质积累,被认为与脂肪变性和 NASH 的进展相似<sup>[16]</sup>。

NASH 进展伴随着大量脂质积累而产生脂毒性物质。LI 等<sup>[17]</sup>采用 MCD 饮食模拟 NASH 进展,将 C57BL/6J 小鼠在无病原体条件下分别饲喂 MCD 日粮和对照日粮 2~4 周,研究通过靶向铁死亡抑制肝脏脂肪毒性,从而缓解由 MCD 饮食诱导引起的脂肪变性及相关的肝损伤、炎症和纤维化等。

但是,该模型复制的脂肪性肝炎和纤维化组织学特征及代谢背景与人类肝病发展方式存在差异。MCD 饮食会导致模型动物体重减轻、空腹血糖降

低、外周胰岛素敏感性降低,血清中胰岛素和瘦素水平也较低,甘油三酯(Triglyceride, TC)和胆固醇的水平也有降低的趋势,呈现与人类疾病相反的代谢特征<sup>[18]</sup>。采用 MCD 饮食的主要优点是具有广泛的适用性,并且可在相对较短的时间内复制 NASH 的组织学表现<sup>[19]</sup>。

### 1.5 胆碱缺乏的 L-氨基酸饮食

胆碱缺乏的 L-氨基酸(choline-deficient L-amino defined, CDAA)饮食是一种常用的脂肪变性啮齿动物模型,胆碱缺乏导致肝脏脂质分解代谢缺陷,在没有肥胖或胰岛素抵抗的情况下可导致脂肪变性。LIU 等<sup>[20]</sup>探究重组成纤维细胞生长因子 1(recombinant fibroblast growth factor 1, rFGF1)在 NAFLD 中的治疗策略,采用 CDAA 饮食来复制 NAFLD 模型,将 C57BL/6J 小鼠分别饲喂 CDAA 或对照胆碱补充 L-氨基酸(choline-supplemented L-amino acid-defined, CSAA)饲料 3~6 周,并观察 rFGF1(0.5 mg/kg)的治疗效果,结果表明 rFGF1 的抗脂肪变性作用依赖于 CDAA 模型中有缺陷的分解代谢过程,并且发现在 CDAA 模型中,rFGF1 可以通过降低血浆丙氨酸氨基转移酶水平来预防肝损伤,可以延迟但不能预防肝脏炎症。

CDAA 饲喂的啮齿动物经常表现出与纤维化相关的肝肿瘤,因此可以用来研究 NAFLD 到 NASH,再到 HCC 的进程,需要注意的是雌性小鼠并未出现这些病变<sup>[21]</sup>。与 MCD 饮食具有相似效果,CDAA 饮食可以抑制肝细胞内的脂肪酸氧化,增加脂质合成,导致过氧化应激和炎症反应,进而引起肝纤维化的发生<sup>[22]</sup>,相较于 MCD 饮食,CDAA 饮食需要更长时间才能观察到这些组织学的变化。和 MCD 饮食类似,显示的代谢谱和人类疾病相反。这种模型不适用于检查疾病的代谢谱。

### 1.6 基因工程模型

基因遗传改变导致显著的肝脏脂质积累,而没有明显的炎症和纤维化。通常需要额外的刺激,如改变饮食来诱导 NASH 的组织病理学特征。目前应用较多的基因编辑模型主要是瘦素基因缺陷小鼠(ob/ob)、瘦素受体基因缺陷小鼠(db/db)。Ob/ob 小鼠可表现出食欲亢进和运动不活跃的特征,随后可发展为严重的肥胖、高脂血症和胰岛素抵抗。该模型小鼠很少发生严重的肝损伤或自发性脂肪性肝

炎,往往需要额外的刺激因素诱导相关的病理变化,这些可能包括:小剂量的脂多糖内毒素、缺血再灌注损伤、高脂肪饮食或 MCD 饮食饲喂<sup>[23]</sup>。Db/db 小鼠和 ob/ob 小鼠类似,表现出贪食、肥胖,db/db 小鼠可出现高血糖、高胰岛素血症以及肝脂肪变性等相应病理指标的变化,但也需要额外的刺激因素才能发展为严重的肝损伤。

此外,还有其他的遗传模型,例如肝脏特异性双敲除 TSC1、PTEN 导致的持续高哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号可驱动 20 周龄内肝肿大、肝脂肪变性、脂肪性肝炎和多发性高级别 HCC 的顺序发展<sup>[24]</sup>。

对于所有的遗传模型,膳食组成也起着很重要的角色,通常需要添加胆固醇的 HFD,也需要添加果糖,以产生肝脏炎症和一定程度的纤维化<sup>[25]</sup>,即饮食诱导伴基因编辑技术复制脂肪肝模型。

### 1.7 化学药物诱导模型

在饮食诱导基础上,加入一些药物可诱发形成晚期慢性肝病动物模型。化学诱导肝实质损伤和纤维化,并且纤维化最终可能进展为肝硬化和肝细胞癌,发生率相对较高。一些常见的针对肝脏的靶向化学毒素包括 CCl<sub>4</sub>、DEN、硫代乙酰胺(TAA)等。

下面以 CCl<sub>4</sub> 和 DEN 为例,简述其诱导模型的原理。SUN 等<sup>[26]</sup>采用 DEN/CCl<sub>4</sub> 诱导 HCC 小鼠模型。DEN 是强烈的化学致癌物,通过改变肝脏内的 DNA 结构,可以诱发肝细胞癌。CCl<sub>4</sub> 可通过其自身的溶酶作用和自由基代谢产物三氯化碳(CCl<sub>3</sub>),引起肝损伤并且激活肝星状细胞,导致胶原纤维沉积,进而引发肝纤维化和促进肝癌的发展<sup>[27-28]</sup>。研究人员将 DEN 和 CCl<sub>4</sub> 两者联合,可加快肝癌发展,缩短模型复制时间,提高成功率。同理,FU 等<sup>[29]</sup>将雄性 microRNA-223 敲除 C57BL/6 小鼠和野生型 C57BL/6 小鼠在 15 日龄时腹腔注射单剂量 DEN(25 mg/kg),随后从 8 周龄开始腹腔注射 CCl<sub>4</sub>(2 mL/kg,每周 1 次),连续 21 周,成功复制肝癌模型小鼠。

综上所述,HFD 模型是最常用的模型,其模拟了人类 NAFLD 的常见诱因——不良饮食习惯。然而,这种模型通常只涉及脂肪堆积,难以模拟炎症和纤维化过程。基因工程模型可模拟特定基因变异对 NAFLD 的影响,这类模型有助于揭示遗传因素在疾病中的作用,但可能无法反映环境和生活方式

的影响。化学药物诱导模型,如使用 CCl<sub>4</sub>或 DEN 处理小鼠,能够模拟化学药物诱导脂肪性肝炎到肝细胞癌的进展(见表 1)。除小鼠模型外,近年来斑马鱼作为一种新兴的、重要的 NAFLD 研究工具被广泛使用。斑马鱼具有繁殖力高、体外发育快、光学透明等独特优势,可通过饮食、化学治疗和基因操作建立相关 NAFLD 模型进行研究<sup>[30]</sup>,斑马鱼模型可为体内啮齿动物模型和体外细胞评价模型进行补充。总之,不同模型应根据实验需求进行选择,才能更好的反映疾病状态从而达到实验目的。

## 2 细胞模型

动物模型并不完全模拟脂肪肝疾病的整个病理过程,且个体间差异较大。不同的诱导模型也会导致不同的病理状态,为了确保试验条件的一致性,肝脏细胞系和原代肝细胞被用作在体外研究脂肪肝疾病时的可靠模型<sup>[31]</sup>(见图 2)。体外模型可克服由动物模型带来的个体差异,对其实验条件较易控制,更加客观。

### 2.1 原代肝细胞

原代肝细胞离体时间短,是更接近体内环境的

表 1 常见 NAFLD 动物模型的主要特点

模型种类	肥胖	胰岛素抵抗	脂肪变性	纤维化	肝细胞癌
<b>饮食诱导</b>					
HFD	√	√	√	√	×
HCD	×	仅肝胰岛素抵抗	√	√	×
FFC	√	√	√	√	×
MCD	×	仅肝胰岛素抵抗	√	√	×
CDA	×	×	√	√	×
<b>基因缺陷</b>					
Ob/Ob	√	√	√	×	×
Db/Db	√	√	√	×	×
PTEN	×	×	√	√	×
<b>复合型</b>					
Ob/Ob+MCD	√	√	√	√	×
Db/Db+MCD	√	√	√	×	×
HFD+DEN/CCl <sub>4</sub>	√	√	√	√	√

注：“√”表示可模拟 NAFLD 发生发展过程中的症状；“×”表示无法模拟 NAFLD 发生发展过程中的症状,或不自发发生。

研究模型,且原代肝细胞可避免体内实验时肝脏其他细胞对肝细胞的影响。较动物模型体内实验相比,细胞模型具有更好的可控性。

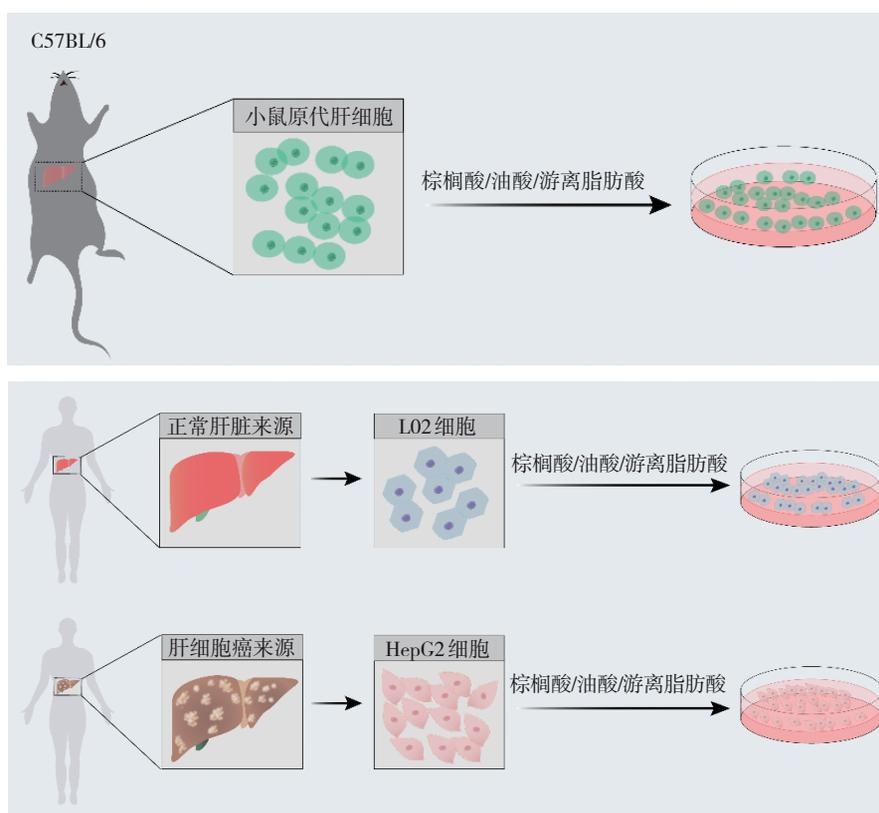


图 2 体外 NAFLD 细胞模型示意图

体外研究肝细胞生物学的黄金标准模型是分离的原代人类或啮齿动物肝细胞, NAGARAJAN 等<sup>[32]</sup>在研究人肝细胞系和原代小鼠肝细胞的脂质和糖代谢时, 成功复制小鼠原代肝细胞模型(primary mouse hepatocytes, PMH), 后续采用油酸或棕榈酸进行处理, 获得 NAFLD 相关细胞模型。在这项研究中, 将 PMH 与人肝癌细胞系进行对比发现, 相比于永生化的细胞系, 从肝脏分离出的原代肝细胞在基础或胰岛素刺激状态下更能反映肝细胞的真实生理状态。在进行脂质代谢基础研究时, 有研究采用棕榈酸诱导的 C57BL/6J 小鼠原代肝细胞进行探索研究, 在成功分离及培养出原代肝细胞之后, 采用 0.4 mmol/L 棕榈酸干预小鼠原代肝细胞 24 h, 成功复制小鼠原代肝细胞高脂模型<sup>[33]</sup>。同理, 颜家琦等<sup>[34]</sup>使用油酸与棕榈酸建立小鼠原代肝细胞脂质蓄积模型, 证实了该模型的有效性。此外, 人原代肝细胞也在较小范围内适用于 NAFLD 的模型复制, 尽管该模型是通过从人肝组织中分离获得的(其表型接近于原代人肝细胞), 但具有遗传变异、表型不稳定、不容易获取人肝组织等问题<sup>[35]</sup>。因此, 较常用的原代肝细胞模型仍然是从啮齿动物中获得。

## 2.2 永生化的肝细胞系

离体培养的肝细胞模型是一种可以精确模拟体内肝脏活动的简单系统, 相较于其他肝脏肿瘤细胞系, 人肝癌细胞系 HepG2 可实现在接近于生理状态下研究肝细胞的代谢过程<sup>[36]</sup>。研究报道可采用人肝细胞系 L02 和 HepG2 建立 NAFLD 细胞模型。一项研究发现, NAFLD 患者的血清中棕榈酸(palmitic acid, PA)和油酸(oleic acid, OA)是游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)中含量最高的成分<sup>[37]</sup>, 因此, 可以使用棕榈酸、油酸或游离脂肪酸混合物来建立体外肝脏脂肪变性模型, 从而模拟人体疾病状态<sup>[38-39]</sup>。

有研究报道, 油酸是一种单不饱和的  $\omega-9$  脂肪酸, 用于构建体外 NAFLD 模型<sup>[40]</sup>, 经油酸处理后的 L02 和 HepG2 细胞出现了脂滴的形成和更高的凋亡率, 表明构建体外 NAFLD 模型成功。CHEN 等<sup>[41]</sup>在研究高脂肪对体外 NAFLD 的影响时, 采用高脂肪试剂(油酸钠: 棕榈酸钠 = 2:1)诱导 HepG2 细胞, 发现诱导 2 d 后的 HepG2 细胞出现脂质积累和氧化应激的现象, 表明成功复制 NAFLD 细胞模型。

除了常用油酸、棕榈酸或其不同比例的混合物

诱导肝细胞脂肪变性外, 贺雯茜等<sup>[42]</sup>使用 4 mmol/L 果糖成功诱导 L02 肝细胞脂肪变性, 该方法具有时间短、成本低、方法稳定性高且重现性好诸多优势, 能较好地模拟高果糖饮食诱发的非酒精性脂肪性肝病, 适用于研究脂质合成相关问题。

## 3 类器官模型

类器官是一种微型的三维细胞培养模型, 可以模拟真实器官的功能和结构。类器官最初起源来自患者原发性肿瘤, 然后对其进行培养, 类器官能够以高度一致的方式, 在组织学、分子水平和功能上模拟来源肿瘤细胞或组织<sup>[43]</sup>。

人工合成的肝细胞类器官使基于 CRISPR 的脂肪变性靶点发现和药物筛选成为可能, 类器官模型将有助于研究脂肪变性的病因和药物靶点。一项新的研究使用人胎儿肝细胞类器官模型来模拟 NAFLD 的早期阶段, 其研究人员模拟了脂肪变性的几种驱动因素, 包括遗传危险因素和单基因脂质紊乱。此外, 研究人员开发了一种基于 CRISPR 的筛选平台(称为 FatTracer)用于识别脂肪变性的调节剂或靶标, 特别是使用单基因脂质紊乱(APOB7 和 MTP7)的类器官模型<sup>[44]</sup>。

在疾病发展过程中, 研究不同类型肝细胞之间三维相互作用的体外模型甚少。有研究采用人类多能干细胞生成肝类器官并开发肝脏类器官平台, 用于模拟复杂的肝脏疾病, 包括 NASH<sup>[45]</sup>。人类类器官模型可通过模拟体内疾病表现, 包括各种细胞类型之间的相互作用<sup>[46]</sup>, 可避免与动物模型相关的疾病机制和药物反应的物种特异性差异。

## 4 总结与展望

NAFLD 的模型复制主要是在啮齿动物中, 一般是饮食驱动、化学诱导或是遗传改变, 固有的种间差异(尤其是在新陈代谢方面)也是需要纳入考虑的范畴。小鼠模型基于饮食、遗传和毒素诱导, 并非所有的模型都能很好的反映人类的特征。与代谢功能障碍相关的四个主要特征是 NAFLD 动物模型的目标, 包括肝脂肪变性、胰岛素抵抗、炎症和纤维化<sup>[47]</sup>。多个模型比较结果可能存在优势, 因为没有一个模型能完全复制人类 NAFLD 的所有致病前要求。相对准确的营养饮食模型包含了西方饮食

的所有饮食成分,包括脂肪、果糖和胆固醇。这样的饮食需要维持 20 周或者更长时间的喂养期才能重现 NASH 的组织病理特征。建议研究人员可根据不同实验目的选择实验模型动物复制方式。

NAFLD 细胞模型构建的影响因素单一。实验室常用的细胞模型存在一些限制,例如无法实现长时间培养、细胞易失去正常形态,以及无法模拟体内环境中的影响(如对肝星状细胞的影响)。此外,这些模型往往不能准确地反映肝细胞的表型和功能<sup>[48]</sup>。进行实验研究时,可将细胞模型与动物模型一同复制,更好地辅助实验中 NAFLD 模型的复制。

NAFLD 及其相关性疾病已经成为全球公共卫生健康安全的前沿关注点,此疾病预计在未来的几十年将不断地发展、恶化,而 NAFLD 没有明确的用药指南。目前,小鼠模型已成为临床研究 NAFLD 机制基础及识别新型标志物、预后标志物和候选治疗药物的主要手段。随着现代技术的不断提升和研究的更一步深入,未来的 NAFLD 模型会不断完善,以帮助相关研究人员对疾病机制的探索研究。

#### 参 考 文 献 :

- [1] 郭亮, 汤其群. 非酒精性脂肪肝发病机制和治疗的研究进展[J]. 生命科学, 2018, 30(11): 1165-1172.
- [2] HUANG D Q, SINGAL A G, KONO Y, et al. Changing global epidemiology of liver cancer from 2010 to 2019: NASH is the fastest growing cause of liver cancer[J]. Cell Metab, 2022, 34(7): 969-977.e2.
- [3] ABDELMALEK M F. Nonalcoholic fatty liver disease: another leap forward[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(2): 85-86.
- [4] CAO L, XU E J, ZHENG R D, et al. Traditional Chinese medicine Lingguizhugan decoction ameliorate HFD-induced hepatic-lipid deposition in mice by inhibiting STING-mediated inflammation in macrophages[J]. Chin Med, 2022, 17(1): 7.
- [5] 郭万成, 王雅静, 居梦娴, 等. 达格列净促进高脂诱导肥胖小鼠肝脏脂肪酸氧化的初步机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(11): 37-44.
- [6] RAO S Y, YANG X C, OHSHIRO K, et al.  $\beta$ 2-spectrin (SPTBN1) as a therapeutic target for diet-induced liver disease and preventing cancer development[J]. Sci Transl Med, 2021, 13(624): eabk2267.
- [7] LUO J, YANG H Y, SONG B L. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(4): 225-245.
- [8] IBRAHIM S H, HIRSOVA P, MALHI H, et al. Animal models of nonalcoholic steatohepatitis: eat, delete, and inflame[J]. Dig Dis Sci, 2016, 61(5): 1325-1336.
- [9] WOUTERS K, van GORP P J, BIEGHS V, et al. Dietary cholesterol, rather than liver steatosis, leads to hepatic inflammation in hyperlipidemic mouse models of nonalcoholic steatohepatitis[J]. Hepatology, 2008, 48(2): 474-486.
- [10] HANSEN H H, FEIGH M, VEIDAL S S, et al. Mouse models of nonalcoholic steatohepatitis in preclinical drug development[J]. Drug Discov Today, 2017, 22(11): 1707-1718.
- [11] VERGNES L, PHAN J, STRAUSS M, et al. Cholesterol and cholate components of an atherogenic diet induce distinct stages of hepatic inflammatory gene expression[J]. J Biol Chem, 2003, 278(44): 42774-42784.
- [12] CHARLTON M, KRISHNAN A, VIKER K, et al. Fast food diet mouse: novel small animal model of NASH with ballooning, progressive fibrosis, and high physiological fidelity to the human condition[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2011, 301(5): G825-G834.
- [13] 辛一敬, 陈逸云, 杨海琳, 等. 旋覆花汤对高脂高果糖高胆固醇饮食诱导非酒精性脂肪性肝炎小鼠模型的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(6): 1340-1350.
- [14] IM Y R, HUNTER H, de GRACIA HAHN D, et al. A systematic review of animal models of NAFLD finds high-fat, high-fructose diets most closely resemble human NAFLD[J]. Hepatology, 2021, 74(4): 1884-1901.
- [15] YAO Z M, VANCE D E. Reduction in VLDL, but not HDL, in plasma of rats deficient in choline[J]. Biochem Cell Biol, 1990, 68(2): 552-558.
- [16] RINELLA M E, GREEN R M. The methionine-choline deficient dietary model of steatohepatitis does not exhibit insulin resistance[J]. J Hepatol, 2004, 40(1): 47-51.
- [17] LI X Y, WANG T X, HUANG X M, et al. Targeting ferroptosis alleviates methionine-choline deficient (MCD) -diet induced NASH by suppressing liver lipotoxicity[J]. Liver Int, 2020, 40(6): 1378-1394.
- [18] LARTER C Z, YEH M M, WILLIAMS J, et al. MCD-induced steatohepatitis is associated with hepatic adiponectin resistance and adipogenic transformation of hepatocytes[J]. J Hepatol, 2008, 49(3): 407-416.
- [19] YAMAGUCHI K, YANG L, MCCALL S, et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis[J]. Hepatology, 2007, 45(6): 1366-1374.
- [20] LIU W L, STRUIK D, NIES V J M, et al. Effective treatment of steatosis and steatohepatitis by fibroblast growth factor 1 in mouse models of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(8): 2288-2293.
- [21] NEVZOROVA Y A, BOYER-DIAZ Z, CUBERO F J, et al. Animal models for liver disease - a practical approach for translational research[J]. J Hepatol, 2020, 73(2): 423-440.
- [22] KODAMA Y, KISSELEVA T, IWAIKAKO K, et al. *c-Jun* n-terminal kinase-1 from hematopoietic cells mediates progression

- from hepatic steatosis to steatohepatitis and fibrosis in mice[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(4): 1467-1477.e5.
- [23] BRIX A E, ELGAVISH A, NAGY T R, et al. Evaluation of liver fatty acid oxidation in the leptin-deficient obese mouse[J]. *Mol Genet Metab*, 2002, 75(3): 219-226.
- [24] MOSSMANN D, MÜLLER C, PARK S, et al. Arginine reprograms metabolism in liver cancer via RBM39[J]. *Cell*, 2023, 186(23): 5068-5083.e23.
- [25] FARRELL G, SCHATTENBERG J M, LECLERCQ I, et al. Mouse models of nonalcoholic steatohepatitis: toward optimization of their relevance to human nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*, 2019, 69(5): 2241-2257.
- [26] ZHANG W J, ZHANGYUAN G Y, WANG F, et al. The zinc finger protein Miz1 suppresses liver tumorigenesis by restricting hepatocyte-driven macrophage activation and inflammation[J]. *Immunity*, 2021, 54(6): 1168-1185.e8.
- [27] 焦艺博, 刘晓婷, 毛文超, 等. 姜黄素对二乙胺基亚硝胺诱发小鼠肝癌前病变的预防作用[J]. *中国药师*, 2012, 15(9): 1218-1222.
- [28] 匡志鹏, 谢裕安, 杨帆, 等. C57BL/6J 小鼠肝癌动物模型的建立[J]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16(7): 657-660.
- [29] FU Y J, MACKOWIAK B, FENG D C, et al. MicroRNA-223 attenuates hepatocarcinogenesis by blocking hypoxia-driven angiogenesis and immunosuppression[J]. *Gut*, 2023, 72(10): 1942-1958.
- [30] CHANG C, LI H C, ZHANG R L. Zebrafish facilitate non-alcoholic fatty liver disease research: tools, models and applications[J]. *Liver Int*, 2023, 43(7): 1385-1398.
- [31] 王译彬, 刘瑞, 刘南南, 等. 动物脂肪肝模型构建研究进展[J]. *家畜生态学报*, 2022, 43(6): 8-16.
- [32] NAGARAJAN S R, PAUL-HENG M, KRYCER J R, et al. Lipid and glucose metabolism in hepatocyte cell lines and primary mouse hepatocytes: a comprehensive resource for *in vitro* studies of hepatic metabolism[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2019, 316(4): E578-E589.
- [33] 王亚荻. 锌 alpha2 糖蛋白对棕榈酸诱导的 C57 小鼠原代肝细胞内脂质代谢的影响及机制[D]. 衡阳: 南华大学, 2017.
- [34] 颜家琦, 王思齐, 王峥, 等. 黄连生物碱改善小鼠原代肝细胞糖异生与脂质蓄积[J]. *基础医学与临床*, 2023, 43(6): 923-930.
- [35] ZEILINGER K, FREYER N, DAMM G, et al. Cell sources for *in vitro* human liver cell culture models[J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2016, 241(15): 1684-1698.
- [36] EDWARDS M, HOUSEMAN L, PHILLIPS I R, et al. Isolation of mouse hepatocytes[J]. *Methods Mol Biol*, 2013, 987: 283-293.
- [37] GAMBINO R, BUGIANESI E, ROSSO C, et al. Different serum free fatty acid profiles in NAFLD subjects and healthy controls after oral fat load[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 479.
- [38] GÓMEZ-LECHÓN M J, DONATO M T, MARTÍNEZ-ROMERO A, et al. A human hepatocellular *in vitro* model to investigate steatosis[J]. *Chem Biol Interact*, 2007, 165(2): 106-116.
- [39] MORAVCOVÁ A, ČERVINKOVÁ Z, KUČERA O, et al. The effect of oleic and palmitic acid on induction of steatosis and cytotoxicity on rat hepatocytes in primary culture[J]. *Physiol Res*, 2015, 64(Suppl 5): S627-S636.
- [40] XIE C F, CHEN Z, ZHANG C F, et al. Dihydromyricetin ameliorates oleic acid-induced lipid accumulation in L02 and HepG2 cells by inhibiting lipogenesis and oxidative stress[J]. *Life Sci*, 2016, 157: 131-139.
- [41] CHEN S N, CHE S Y, LI S Q, et al. The combined impact of decabromodiphenyl ether and high fat exposure on non-alcoholic fatty liver disease *in vivo* and *in vitro*[J]. *Toxicology*, 2021, 464: 153015.
- [42] 贺雯茜, 杨金玉, 徐艳娇, 等. 果糖诱导肝脂肪变性细胞模型建立及评价[J]. *肝脏*, 2019, 24(6): 638-642.
- [43] LALLO A, SCHENK M W, FRESE K K, et al. Circulating tumor cells and CDX models as a tool for preclinical drug development[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2017, 6(4): 397-408.
- [44] HENDRIKS D, BROUWERS J F, HAMER K, et al. Engineered human hepatocyte organoids enable CRISPR-based target discovery and drug screening for steatosis[J]. *Nat Biotechnol*, 2023, 41(11): 1567-1581.
- [45] RAMLI M N B, LIM Y S, KOE C T, et al. Human pluripotent stem cell-derived organoids as models of liver disease[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(4): 1471-1486.e12.
- [46] van de WETERING M, FRANCIES H E, FRANCIS J M, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients[J]. *Cell*, 2015, 161(4): 933-945.
- [47] ENG J M, ESTALL J L. Diet-Induced models of non-alcoholic fatty liver disease: food for thought on sugar, fat, and cholesterol[J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1805.
- [48] 张译之, 张晓慧, 陈煜. 非酒精性脂肪性肝病动物模型研究进展[J]. *实用肝脏病杂志*, 2021, 24(5): 761-764.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 高婷婷, 谭明, 陈万金, 等. 非酒精性脂肪性肝病模型研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2024, 34(23): 54-61.

Cite this article as: GAO T T, TAN M, CHEN W J, et al. Research progress on models of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(23): 54-61.