doi:10.11659/jjssx.02E026079

·基础研究·

# 镉在代谢功能障碍相关脂肪性肝炎进展中的促进作用及褪黑素的干预效应

钱 川[1,2],刘秋宏[2],蔡静姝[2],刘 聪[2],许商成[1,2] (1.南京医科大学公共卫生学院,江苏 南京 211166;2.突发中毒应急检测和紧急救治重庆市卫生健康委重点实验室/重庆市职业病防治院,重庆 400060)

[摘 要] **目的** 探讨镉(Cd)促进代谢功能障碍相关脂肪性肝炎(MASH)进展中的关键靶点与相关通路,并分析褪黑素(MLT)在其进展中的拮抗作用及潜在机制。**方法** 采用网络毒理学分析筛选Cd促进MASH进展的信号通路及核心靶点,然后用分子对接方法评估MLT与候选靶点的亲和力。实验验证方面,先在Cd暴露联合胆碱缺乏的L-氨基酸限定高脂饮食诱导的MASH小鼠模型上,采用HE、Masson、Sirius Red染色及F4/80免疫组化染色评估小鼠肝脂肪变性、纤维化及炎性浸润程度;然后,在Cd暴露联合棕榈酸钠(PA)诱导脂毒性的人肝癌细胞系HepG2细胞模型上检测活性氧(ROS)、丙二醛(MDA)含量与超氧化物歧化酶(SOD)活性评价氧化应激水平,采用脂滴绿色荧光(BODIPY)染色检测脂质蓄积程度。在上述研究基础上联合MLT干预,探讨MLT在Cd促进MASH进展中的作用及潜在机制。**结果** 网络毒理学分析提示,Cd促进MASH进展可能与FOXO、PI3K-AKT、TNF等炎症和氧化应激通路相关,其候选靶点为TNF、IL-6、TP53、AKT1等。分子对接结果显示,MLT与TNF、IL-6、TP53、AKT1、RELA、TLR4等核心靶点具有较好的亲和力。体内实验表明,Cd暴露加重肝组织损伤、纤维化、脂肪变性及炎性浸润程度;体外实验显示,Cd暴露可增强PA诱导的脂毒性,表现为ROS水平和MDA含量升高,SOD活性下降,脂质蓄积增加($P<0.05$);MLT干预后,上述病理学改变、氧化应激损伤及脂质蓄积均得到改善($P<0.05$)。**结论** Cd暴露可促进MASH进展,可能与FOXO、PI3K-AKT、TNF等通路及TNF、IL-6、TP53、AKT1等靶点有关;MLT与上述靶点具有较好的亲和力,可通过干扰炎症及氧化应激通路减轻Cd在MASH进展中的促进作用。

[关键词] 镉;代谢功能障碍相关脂肪性肝炎;褪黑素;网络毒理学;分子对接
[中图分类号] R124 [文献标志码] A [收稿日期] 2026-02-14

## Promoting effect of cadmium on the progression of metabolic dysfunction-associated steatohepatitis and the interventional efficacy of melatonin

QIAN Chuan[1,2], LIU Qiu-hong[2], CAI Jing-shu[2], LIU Cong[2], XU Shang-cheng[1,2] (1.School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing Jiangsu 211166, China; 2.Chongqing Municipal Health Commission Key Laboratory for Emergency Poisoning Detection and Acute Care/Chongqing Prevention and Treatment Center for Occupational Diseases, Chongqing 400060, China)

**Abstract: Objective** To explore the key targets and relevant pathways of cadmium (Cd)-promoted metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH) progression, and to analyze the antagonistic effect and underlying mechanism of melatonin (MLT) against this progression. **Methods** Network toxicology analysis was adopted to screen signaling pathways and core targets of Cd-promoted MASH progression, and molecular docking was then performed to assess the binding affinity between MLT and the candidate targets. For experimental verification, a MASH mouse model induced by Cd exposure combined with choline-deficient L-amino acid-defined high-fat diet was established. HE staining, Masson staining, Sirius Red staining and F4/80 immunohistochemical staining were used to evaluate the degrees of hepatic steatosis, fibrosis and inflammatory infiltration in mice. Furthermore, a human hepatoma cell line HepG2 model of lipotoxicity was constructed via Cd exposure combined with sodium palmitate (PA) treatment. Oxidative stress levels were determined by detecting reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA) content and superoxide dismutase (SOD) activity, and lipid accumulation was detected by green fluorescence (BODIPY) staining. Based on the above experiments, MLT intervention was further conducted to investigate the role and underlying mechanism of MLT in Cd-promoted MASH progression. **Results** Network toxicology analysis indicated that Cd-promoted MASH progression might be related to inflammatory and oxidative stress pathways including FOXO, PI3K-AKT and TNF, and candidate targets such as TNF, IL-6, TP53 and AKT1. Molecular docking results revealed that MLT exhibited good binding affinity to core targets including TNF, IL-6, TP53, AKT1, RELA and TLR4. In vivo experiments demonstrated that Cd exposure aggravated liver tissue injury, fibrosis, steatosis and inflammatory infiltration. In vitro experiments showed that Cd exposure exacerbated PA-induced lipotoxicity, manifested as

[基金项目] 国家自然科学基金(82073523);重庆市自然科学基金面上项目(CSTB2025NSCQ-GPX1331);重庆市科卫联合重点项目(2026ZDXM011);重庆市科卫联合青年项目(2024QNXM040)

[通信作者] 许商成,E-mail:xushangchengmito@163.com;刘 聪,E-mail:liucong5118@163.com

elevated ROS level and MDA content, reduced SOD activity and increased lipid accumulation ($P<0.05$). After MLT intervention, the above pathological changes, oxidative stress damage and lipid accumulation were all significantly improved ($P<0.05$). **Conclusion** Cd exposure accelerates the progression of MASH, possibly involving FOXO, PI3K-AKT, TNF pathways and targets including TNF, IL-6, TP53 and AKT1. MLT exhibits favorable binding affinity to the above targets and attenuates the promoting effect of Cd on MASH progression by modulating inflammatory and oxidative stress pathways.

**Keywords:** cadmium; metabolic dysfunction-associated steatohepatitis; melatonin; network toxicology; molecular docking

代谢功能障碍相关脂肪性肝炎(metabolic dysfunction-associated steatohepatitis,MASH)既往也称非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis,NASH),是代谢功能障碍相关脂肪性肝病(metabolic dysfunction-associated fatty liver disease,MASLD)进展的关键阶段,其主要病理学特征包括肝细胞脂质蓄积、炎症细胞浸润及不同程度的纤维化[1]。随着肥胖、2型糖尿病等代谢性疾病患病率持续上升,MASH相关的疾病负担日益加重,已成为公共卫生领域的重要问题。胰岛素抵抗、脂代谢紊乱与脂毒性是驱动MASH发生发展的核心因素,但环境风险因素的影响不容小觑,其可加重代谢异常,从而产生进一步效应,成为影响MASH病程的重要外源性因素[2-3]。

重金属镉(cadmium,Cd)是一种高毒性、长生物半衰期的环境污染物,肝作为机体代谢与解毒的关键器官,对Cd暴露具有较高敏感性[4]。Cd暴露可破坏氧化还原稳态,诱导活性氧(reactive oxygen species,ROS)过量生成、脂质过氧化增强及线粒体功能障碍,进而削弱抗氧化防御体系并造成肝细胞损伤[5]。流行病学数据显示,尿Cd水平升高与男性患MASLD风险增加相关[6];血Cd水平与丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase,ALT)、脂肪肝指数和肝脂肪变性指数等MASLD指标相关[7]。Cd可能通过上调NF-κB表达、激活NLRP3炎症小体,推动MASLD进展[8]。Cd联合富含饱和脂肪酸的饮食会促进M1型巨噬细胞极化和激活,进而诱发持续性肝炎[9]。但是,Cd暴露介导MASH进展的具体作用及机制尚不明确,目前相应的治疗措施也非常有限。

褪黑素(melatonin,MLT)是松果体分泌的内源性吲哚胺类激素,具有明确的抗氧化、抗炎、调节免疫等功能[10]。研究表明,MLT对肝损伤和MASH具有良好的修复效果,可减轻Cd诱导的肝损伤,并可通过抗氧化和抗炎作用延缓MASH进展[11-12]。MLT还可通过调控细胞自噬减轻Cd诱导的肝毒性,延缓MASLD进展[13]。然而,在Cd促进MASH发生发展中,MLT发挥干预作用的调控通路和分子靶点尚未完全阐明,仍有待进一步研究。

网络毒理学能整合多组学数据和网络分析方法,是筛选推动疾病发展的核心靶点和关键机制的重要手段[14]。分子对接是一种计算模拟手段,能够预测配体和受体的亲和力。目前,网络毒理学结合分子对接是一种重要的预测毒物毒性作用和潜在分子机制的策略。

因此,本文结合网络毒理学、分子对接,并进行体内外实验验证,旨在揭示Cd促进MASH进展的关键通路与核心靶点,并阐明MLT在Cd促进MASH进展中的拮抗作用及其潜在机制,为Cd暴露促进MASH进展的防治提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

30只SPF级雄性7周龄C57BL/6小鼠,购自华阜康生物技术有限公司(北京)。本实验已获得重庆市职业病防治院伦理委员会批准(批准号:CQKJ25-07)。所有动物正式造模前适应性喂养1周,且饲养于受控环境(温度22~26 ℃,湿度40%~60%,12 h光照/12 h黑暗周期)。

人肝癌细胞系HepG2细胞购自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所(上海)。DMEM培养基购自上海赛默飞世尔科技有限公司,胎牛血清购自美国Gibco公司,青霉素-链霉素双抗购自上海Beyotime公司,氯化镉、棕榈酸钠(sodium palmitate,PA)、MLT购自美国Sigma-Aldrich公司,丙二醛(malondialdehyde,MDA)检测试剂盒、总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性检测试剂盒、脂滴绿色荧光(BODIPY)检测试剂盒均购自上海Beyotime公司。酶标仪购自上海赛默飞世尔科技有限公司,荧光倒置显微镜购自日本Olympus公司。

### 1.2 网络毒理学分析及核心靶点筛选

从CTD数据库(https://ctdbase.org/)以“cadmium chloride”为关键词检索Cd的毒性靶点,以Interaction Count>5进行筛选。从GeneCards数据库(https://www.genecards.org/)以“NASH”为关键词检索MASH的毒性靶点,以相关性评分大于中位数进行筛选。通过微生

信在线平台(https://www.bioinformatics.com.cn/)绘制Venn图,获取Cd与MASH共同靶点。将共同靶点导入DAVID数据库(https://davidbioinformatics.nih.gov/)进行基因本体论(gene ontology, GO)功能注释及京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。进一步通过GeneCards数据库以"oxidative stress"为关键词检索氧化应激相关靶点,并与Cd和MASH共同靶点进行交叉筛选,获得氧化应激相关候选靶点。运用STRING数据库(https://string-db.org/cgi)进行蛋白互作网络构建,在Multiple protein界面导入上述交集靶点,选择Homo sapiens,以Highest confidence(0.900)进行筛选,将得到的蛋白互作网络导入Cytoscape软件进一步可视化,并运用MCC、Betweenness、Closeness、Degree、Stress算法进行TOP20靶点探索,取5种算法共同交集作为核心靶点。

### 1.3 分子对接分析

在Uniport数据库(https://www.uniprot.org/)检索上述核心蛋白结构,并使用Pymol对其进行预处理,从Pubchem数据库(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)获取MLT分子结构。使用CB-Dock2在线平台(http://cb-dock2/php/blinddock.php)进行分子对接,对接结果进一步使用Pymol可视化[15-16]。

### 1.4 动物模型构建及组织病理学评价

将小鼠随机分为正常饮食(ND)组、镉暴露(Cd)组、胆碱缺乏的L-氨基酸限定高脂饮食诱导MASH模型(CDAHFD)组、Cd联合MASH暴露模型(Cd+CDAHFD)组、MLT组、MLT干预联合Cd和MASH暴露模型(Cd+CDAHFD+MLT)组,每组5只。Cd组采用慢性饮水暴露(10 mg/L[17]),CDAHFD组高脂饲养16周,MLT组及Cd+CDAHFD+MLT组于造模第8周开始以20 mg/kg的MLT隔日腹腔注射给药[12],持续8周。考虑MLT受昼夜节律的影响,均于下午5点左右进行腹腔注射。

干预结束后处死小鼠,分离肝组织,经预冷生理盐水灌注并清洗后,置于4%多聚甲醛固定24 h,固定完成后组织经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡浸蜡包埋,制备石蜡切片。然后行HE染色,统计脂肪变性评分、气球样变评分、小叶炎症评分、非酒精性脂肪性肝病活动度评分(non-alcoholic fatty liver disease activity score, NAS)评分,并进行Masson染色、Sirius Red染色、F4/80免疫组化染色,统计各染色阳性面积占比。利用Image J软件进行半定量分析。

### 1.5 细胞培养及分组

HepG2细胞培养于DMEM完全培养基(配制比例为DMEM:胎牛血清:青霉素-链霉素双抗=89%:10%:1%),置于37 ℃、5%$CO_2$细胞培养箱中培养,每隔2~3 d进行传代,以维持较好的细胞状态。待细胞生长到合适的密度后,将其分为牛血清白蛋白溶剂对照组(BSA组)、c-Cd组、PA诱导脂毒性模型组(PA组)、Cd联合PA暴露模型(Cd+PA)组、c-MLT组、MLT干预联合Cd和PA暴露模型(Cd+PA+MLT)组。根据前期预实验和参考文献确定实验剂量和给药时间,Cd和PA的剂量分别为0.005 mmol/L[18]和0.5 mmol/L[19],MLT的剂量为0.01 mmol/L[20]。MLT预处理2 h后,与Cd联合PA共处理细胞12 h,再进行后续相关指标检测。

### 1.6 氧化应激指标检测

将各组细胞用PBS洗净后,加入对应的裂解液进行细胞裂解和样品制备,按照试剂盒说明书检测MDA含量和SOD活性,随后采用酶标仪完成定量测定;ROS按照试剂盒说明书进行荧光染色,完成后用荧光显微镜拍照采集图像。

### 1.7 BODIPY染色测定

各组细胞用PBS洗净1次,按照试剂盒说明书配制BODIPY染色液,避光染色10~20 min,再用PBS洗涤细胞2次,随后用荧光显微镜进行拍照采集图像。

### 1.8 统计学分析

使用GraphPad Prism 9.0软件进行统计学分析,以Image J软件进行半定量分析。结果以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

## 2 结果

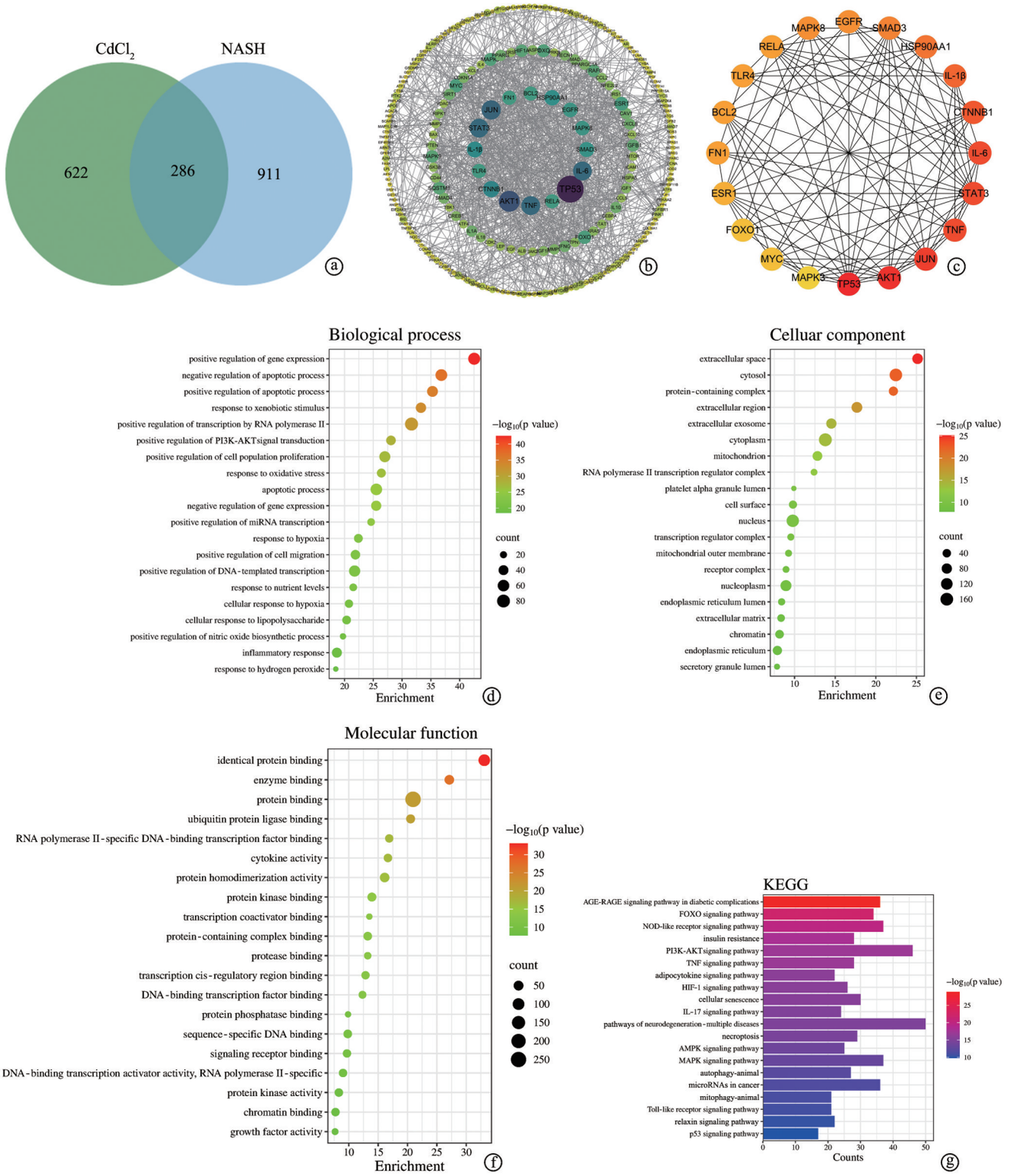
### 2.1 氧化应激和炎症反应可能是Cd促进MASH进展的重要通路

从CTD和GeneCards数据库分别获取Cd相关靶点及MASH相关靶点集合,通过Venn图交集分析,最终得到286个共同靶点(图1a)。将286个共同靶点导入STRING数据库构建蛋白互作网络,并进行网络可视化与核心靶点展示,结果显示TP53、AKT1、TNF、IL-6可能是Cd促进MASH进展的潜在靶点(图1b、c)。进一步将286个靶点导入DAVID数据库进行GO功能注释和KEGG通路富集分析,结果显示,在生物过程中富集于炎症反应、氧化应激等条目,在分子功能上富集于蛋白结合等条目,在细胞组分中富集于细胞外空间等条目(图1d~f),提示Cd促进MASH进展可能与炎症反

应、氧化应激等生物学过程密切相关。KEGG通路富集分析进一步表明,Cd可能通过激活炎症和氧化应激网络推动MASH的发生发展,如FOXO、PI3K-AKT、TNF、IL-17、AMPK等信号通路(图1g)。

### 2.2 基于氧化应激探索Cd促进MASH进展的潜在靶点

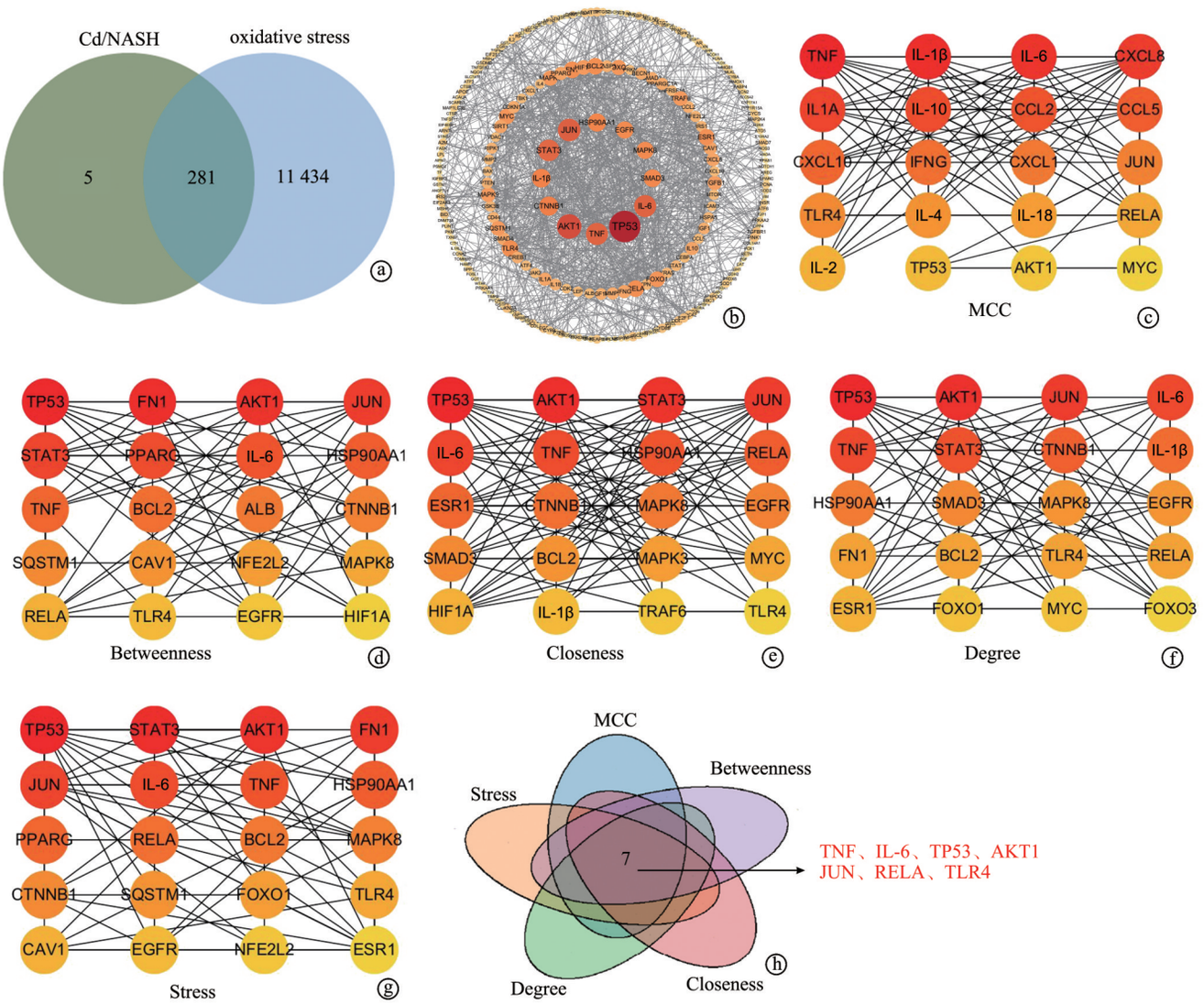
将Cd与MASH的286个共同靶点与氧化应激相




a:Cd和MASH共同靶点的Venn交集;b:Venn交集的蛋白互作网络;c:蛋白互作网络的TOP20靶点;d~f:Cd和MASH交集的GO功能注释;g:Cd和MASH交集的KEGG通路富集分析

**图1 Cd与MASH共同靶点筛选及功能富集分析**

关基因集进行Venn交集分析,得到281个与氧化应激密切相关的靶点(图2a)。将这些靶点导入Cytoscape软件,得到可视化蛋白互作网络(图2b)。为筛选蛋白互作网络中的关键节点,进一步使用CytoHubba插件分别基于5种算法(MCC、Betweenness、Closeness、Degree、Stress)筛选核心靶点(图2c~g),将5种算法取共同交集最终得到TNF、IL-6、TP53、AKT1、JUN、RELA、TLR4等核心靶点(图2h),上述靶点可能在Cd通过诱导氧化应激促进MASH进展的过程中发挥核心调控作用。




a:Cd和MASH共同靶点与氧化应激基因交集分析;b:共同靶点互作网络;c~g:基于MCC、Betweenness、Closeness、Degree、Stress算法的TOP20核心靶点;h:5种算法核心靶点的交集

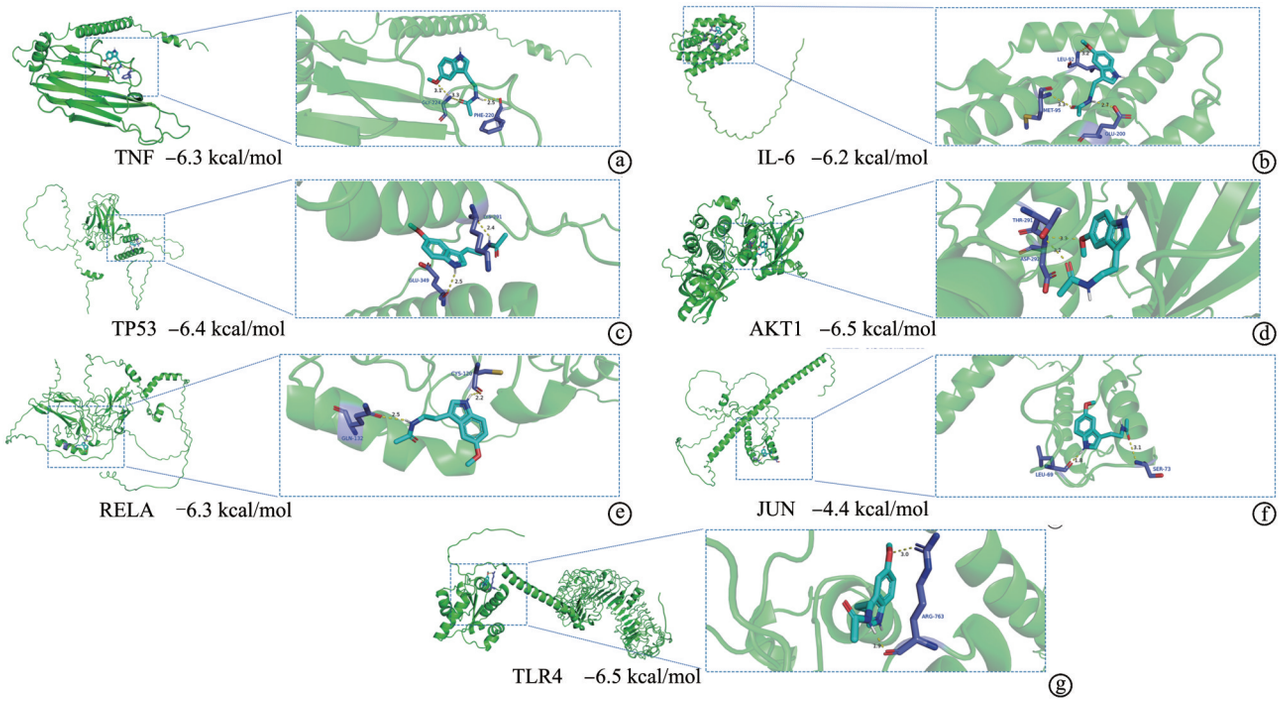
**图2 基于氧化应激探索Cd促进MASH进展的核心靶点**

### 2.3 分子对接验证MLT和核心靶点的亲和力

将预处理后的核心靶点蛋白结构与小分子化合物MLT进行分子对接。结果显示,MLT与TNF、IL-6、TP53、AKT1、RELA、JUN、TLR4的结合能分别为-6.3、-6.2、-6.4、-6.5、-6.3、-4.4、-6.5 kcal/mol,除JUN外,MLT与这些核心靶点均具有较好亲和力(图3)。

### 2.4 Cd暴露通过加重肝损伤、氧化应激和脂质蓄积促进MASH进展

动物实验显示,采用Cd联合CDAHFD高脂饮食构建共暴露模型,结果显示,与CDAHFD组相比,联合暴露后肝组织病理学改变加重,具体表现为肝细胞结构损伤与炎性浸润明显增强,脂肪变性评分及NAS评分增加($P<0.05$),气球样变和小叶炎症评分未见显著差异($P>0.05$);Masson和Sirius Red染色表明,联合暴露后阳性面积占比增高($P<0.05$),胶原沉积增加、纤维化程度进一步加重;F4/80免疫组化染色结果表明,联合暴露后阳性面积占比增高($P<0.05$),炎性浸润程度进一步增加,见图4a。细胞实验显示,




a~g:MLT与TNF、IL-6、TP53、AKT1、RELA、JUN、TLR4的整体对接图

**图3　MLT与核心靶点的分子对接模式**

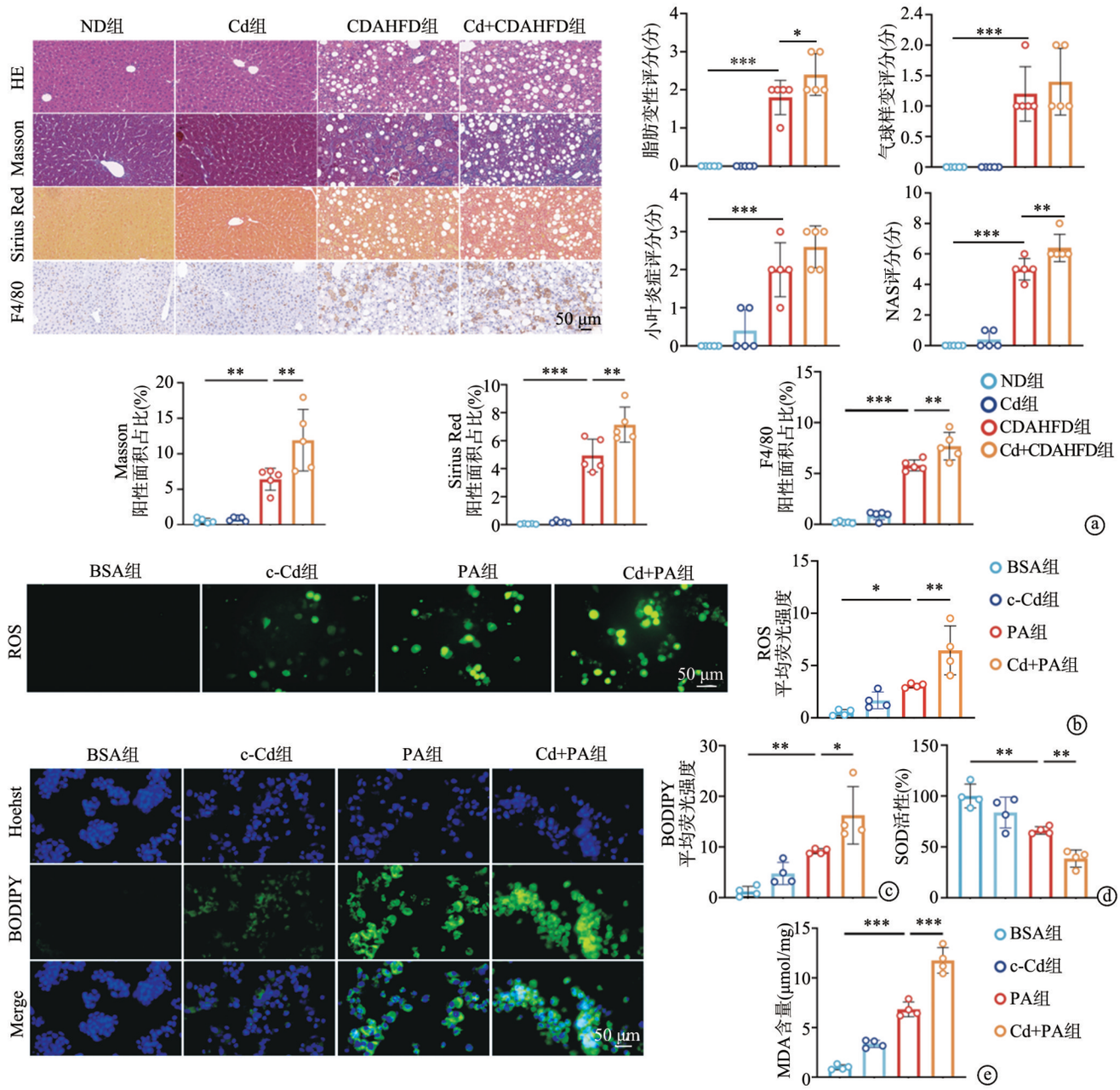
与单独PA组相比,联合Cd暴露后可导致肝细胞ROS荧光信号进一步增强、SOD活性进一步下降、MDA含量进一步升高,同时BODIPY染色提示脂滴堆积进一步增加,提示脂质蓄积加重,上述变化均有统计学差异($P$<0.05),见图4b~e。

### 2.5　MLT通过减轻肝损伤、氧化应激和脂质蓄积抑制Cd对MASH的促进作用

采用MLT干预联合暴露模型,结果显示,与Cd+CDAHFD组相比,MLT可显著缓解Cd促进MASH相关肝组织病理损伤与肝细胞结构损伤,炎性浸润程度下降,脂肪变性、小叶炎症、气球样变及NAS评分降低;Masson和Sirius Red染色表明MLT干预后肝组织纤维化程度减轻;F4/80免疫组化染色提示MLT干预后炎性浸润程度降低(图5a),差异均有统计学意义($P$<0.05)。与Cd+PA组相比,Cd+PA+MLT组细胞内总ROS水平降低、SOD活性升高、MDA含量降低,并脂质蓄积减少,提示MLT能够减轻Cd暴露对脂毒性与氧化应激的放大效应,差异均具有统计学意义($P$<0.05),见图5b~e。

## 3　讨论

本研究整合网络毒理学和分子对接方法,多维度、系统性地揭示了Cd促进MASH进展的通路和潜在靶点。基于Cd和MASH共同靶点进行的GO功能注释和KEGG富集分析结果显示,Cd促进MASH进展可能涉及多条炎症和氧化应激通路,如FOXO、PI3K-AKT、TNF、IL-17、AMPK等信号通路。FOXO1可通过调节脂代谢、氧化应激、免疫炎症等途径介导MASLD进展[21]。激活肝AMPK-TFEB轴可恢复自噬-溶酶体途径从而改善MASH[22]。PI3K-AKT通路可调控脂代谢异常、炎症反应等,从而影响MASH进展[23]。基于CytoHubba的5种拓扑算法提示,TNF、IL-6、TP53、AKT1等可能是Cd促进MASH进展的核心靶点。TNF、IL-6作为重要促炎细胞因子,可通过介导炎症参与MASH发生发展[2]。TP53参与氧化应激稳态调控,其异常与MASH发生发展有关[24]。同样,Cd暴露导致炎症因子TNF-α、IL-6、IL-1β等进行性增加,NF-κB激活并促使巨噬细胞从抗炎型向促炎型的转变[25]。本研究动物实验结果显示,Cd暴露进一步加重了MASH小鼠的肝损伤、纤维化,F4/80免疫组化染色结果表明Cd暴露进一步加重了MASH小鼠的巨噬细胞浸润,而巨噬细胞浸润是炎症反应的重要标志之一。值得注意的是,本研究单纯Cd暴露未引起明显肝组织学损伤,这可能是10 mg/L Cd在长期慢性暴露条件下不足以造成明显损伤,但在MASH疾病背景下作用显著,从而促进MASH进展。体外实验结果表明,Cd暴露进一步促进PA诱导的脂毒性,具体表现为脂质蓄积增加,ROS水平及MDA含量升高、SOD活性下降。以上结果提示,在Cd促进MASH进展中,炎症和氧化应激两条通路可能发挥着关键作用,但其尚需要更多相关指标来



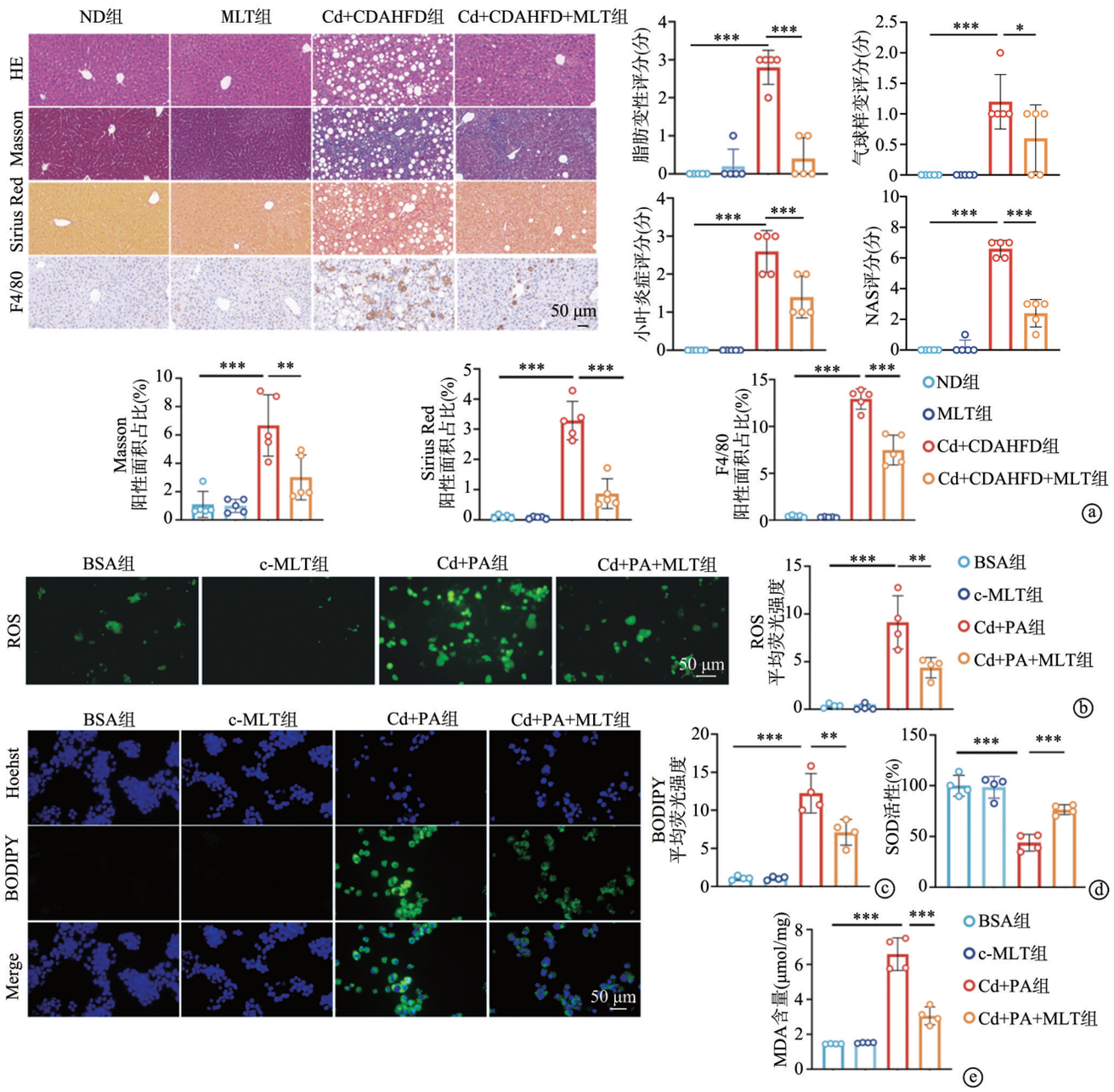

a:小鼠肝组织HE、Masson、Sirius Red、F4/80免疫组化染色结果及半定量分析;b:细胞ROS染色及半定量分析;c:细胞BODIPY染色及半定量分析;d、e:细胞中SOD活性和MDA含量变化 *:$P<0.05$;**:$P<0.01$;***:$P<0.001$

**图4 Cd暴露加剧肝损伤、氧化应激和脂质蓄积**

进一步证实炎症和氧化应激通路的作用及机制;此外,Cd促进MASH进展的核心靶点表达变化及调控作用尚需结合实验研究加以证实。

MLT具有良好的抗氧化与抗炎特性,且在多个研究中被证实可缓解氧化损伤与炎症反应。MLT可改善MASH小鼠的ALT、AST水平,减少炎症因子TNF-α表达和脂质过氧化,增加SOD和GPX活性,降低CAT活性,改善脂质蓄积和延缓纤维化进程来改善MASH[12,26]。在本研究中,MLT干预联合暴露后可减缓Cd促进MASH进展,具体表现为改善肝损伤与纤维化,缓解炎性浸润程度,降低ROS水平与MDA含量,增加SOD活性,减少脂质蓄积。分子对接也揭示,MLT与TNF、IL-6、TP53、AKT1等核心靶点具有较好的亲和力,表明MLT可通过干扰炎症和氧化应激通路从而改善Cd促进MASH进展,但后续仍需分子动力学模拟以及相关分子生物学实验等验证。

综上,本研究整合网络毒理学、分子对接以及体内外实验发现,Cd暴露可通过炎症、氧化应激相关通




a:小鼠肝组织HE、Masson、Sirius Red、F4/80免疫组化染色及半定量分析;b:细胞ROS染色及半定量分析;c:细胞BODIPY染色及半定量分析;d、e:细胞中SOD活性和MDA含量变化　*:$P<0.05$;**:$P<0.01$;***:$P<0.001$

**图5　MLT改善联合暴露导致的肝损伤、氧化应激和脂质蓄积**

路促进MASH进展,具体表现为肝损伤、纤维化与炎性浸润程度加重、脂质蓄积和氧化应激水平升高等;而MLT可改善上述指标,提示其对Cd促进MASH进展具有一定拮抗作用。本文为Cd促进MASH进展提出了氧化应激和炎症两条通路,并为MLT作为环境暴露相关MASH候选药物提供了理论参考。然而,对于Cd促进MASH进展中关键靶点的作用以及MLT的靶向干预机制仍需进一步实验研究加以验证。

## [参考文献]

[1] Miller DM, McCauley KF, Dunham-Snary KJ. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD): mechanisms, clinical implications and therapeutic advances[J]. Endocrinol Diabetes Metab, 2025,8(6):e70132. doi:10.1002/edm2.70132.

[2] Bansal SK, Bansal MB. Pathogenesis of MASLD and MASH: role of insulin resistance and lipotoxicity[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2024, 59(S1):S10-S22. doi:10.1111/apt.17930.

[3] An G, Song J, Ying W, et al. Overview of the hazardous impacts of metabolism-disrupting chemicals on the progression of fatty liver diseases[J]. Mol Cell Toxicol, 2025, 21(2):387-397. doi:10.1007/

s13273-025-00521-6.

[4] Souza-Arroyo V, Fabián JJ, Bucio-Ortiz L, et al. The mechanism of the cadmium-induced toxicity and cellular response in the liver[J]. Toxicology, 2022, 480: 153339. doi: 10.1016/j.tox.2022.153339.

[5] Qu F, Zheng W. Cadmium exposure: mechanisms and pathways of toxicity and implications for human health[J]. Toxics, 2024, 12(6): 388. doi: 10.3390/toxics12060388.

[6] Wu YP, Feng J, Zhang YY, et al. Biological ageing mediates the associations between urinary metals and metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2025, 300: 118455. doi: 10.1016/j.ecoenv.2025.118455.

[7] Park E, Kim J, Kim B, et al. Association between environmental exposure to cadmium and risk of suspected non-alcoholic fatty liver disease[J]. Chemosphere, 2021, 266: 128947. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128947.

[8] Tinkov AA, Aschner M, Santamaria A, et al. Dissecting the role of cadmium, lead, arsenic, and mercury in non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis[J]. Environ Res, 2023, 238(Pt 1): 117134. doi: 10.1016/j.envres.2023.117134.

[9] Zhu Y, Chai XX, Zhao Y, et al. Saturated fatty acids synergizes cadmium to induce macrophages M1 polarization and hepatic inflammation[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2023, 259: 115040. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115040.

[10] Ahmad SB, Ali A, Bilal M, et al. Melatonin and health: insights of melatonin action, biological functions, and associated disorders[J]. Cell Mol Neurobiol, 2023, 43(6): 2437-2458. doi: 10.1007/s10571-023-01324-w.

[11] Migni A, Mancuso F, Baroni T, et al. Melatonin as a repairing agent in cadmium- and free fatty acid-induced lipotoxicity[J]. Biomolecules, 2023, 13(12): 1758. doi: 10.3390/biom13121758.

[12] Miguel FM, Picada JN, Da Silva JB, et al. Melatonin attenuates inflammation, oxidative stress, and DNA damage in mice with nonalcoholic steatohepatitis induced by a methionine- and choline-deficient diet[J]. Inflammation, 2022, 45(5): 1968-1984. doi: 10.1007/s10753-022-01667-4.

[13] Sun J, Bian Y, Ma Y, et al. Melatonin alleviates cadmium-induced nonalcoholic fatty liver disease in ducks by alleviating autophagic flow arrest via PPAR-α and reducing oxidative stress[J]. Poult Sci, 2023, 102(8): 102835. doi: 10.1016/j.psj.2023.102835.

[14] Li X, Lin L, Pang L, et al. Application and development trends of network toxicology in the safety assessment of traditional Chinese medicine[J]. J Ethnopharmacol, 2025, 343: 119480. doi: 10.1016/j.jep.2025.119480.

[15] Liu Y, Yang X, Gan J, et al. CB-Dock2: improved protein-ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting[J]. Nucleic Acids Res, 2022, 50(W1): W159-W164. doi: 10.1093/nar/gkac394.

[16] Yang X, Liu Y, Gan J, et al. FitDock: protein-ligand docking by template fitting[J]. Brief Bioinform, 2022, 23(3): bbac087. doi: 10.1093/bib/bbac087.

[17] Zhu Y, Zhao Y, Chai XX, et al. Chronic exposure to low-dose cadmium facilitated nonalcoholic steatohepatitis in mice by suppressing fatty acid desaturation[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2022, 233: 113306. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113306.

[18] Sun J, Yan L, Chen Y, et al. TFAM-mediated intercellular lipid droplet transfer promotes cadmium-induced mice nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Hazard Mater, 2024, 465: 133151. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.133151.

[19] Aggarwal S, Rastogi A, Maiwall R, et al. Palmitic acid causes hepatocyte inflammation by suppressing the BMAL1-$NAD^+$-SIRT2 axis[J]. J Physiol Biochem, 2024, 80(4): 845-864. doi: 10.1007/s13105-024-01042-x.

[20] Guan Q, Wang Z, Hu K, et al. Melatonin ameliorates hepatic ferroptosis in NAFLD by inhibiting ER stress via the MT2/cAMP/PKA/IRE1 signaling pathway[J]. Int J Biol Sci, 2023, 19(12): 3937-3950. doi: 10.7150/ijbs.85883.

[21] Sha X, Zou X, Liu S, et al. Forkhead box O1 in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: molecular mechanisms and drug research[J]. Front Nutr, 2024, 11: 1426780. doi: 10.3389/fnut.2024.1426780.

[22] Chen M, Liu G, Fang Z, et al. Buddleoside alleviates nonalcoholic steatohepatitis by targeting the AMPK-TFEB signaling pathway[J]. Autophagy, 2025, 21(6): 1316-1334. doi: 10.1080/15548627.2025.2466145.

[23] Zhao J, Zhang Y, Wei Z, et al. The PI3K/Akt/mTOR pathway: immuno-metabolic orchestration in IR/MASH-associated hepatocellular carcinoma[J]. Int J Biol Sci, 2025, 21(14): 6025-6041. doi: 10.7150/ijbs.120657.

[24] Wittke CI, Cheung EC, Athineos D, et al. p53 and TIGAR promote redox control to protect against metabolic dysfunction-associated steatohepatitis[J]. JHEP Rep, 2025, 7(7): 101397. doi: 10.1016/j.jhepr.2025.101397.

[25] Sarmiento-Ortega VE, Moroni-González D, Diaz A, et al. Oral cadmium exposure to environmental doses induces visceral adiposopathy in Wistar rats[J]. Arch Toxicol, 2026, 100(2): 451-463. doi: 10.1007/s00204-025-04228-4.

[26] Xu L, Li H, Zhang O, et al. Melatonin alleviates diet-induced steatohepatitis by targeting multiple cell types in the liver to suppress inflammation and fibrosis[J]. J Mol Endocrinol, 2023, 70(1): e220075. doi: 10.1530/JME-22-0075.

(编辑:魏 源)