DOI:10.16016/j.2097-0927.202309045

吲哚-3-丙酸通过调节脂肪组织代谢改善高脂饮食诱导代谢相关脂肪性肝病的作用及机制研究

姚 宇*,侯鹏飞*,周 敏,郎和东,刘明华,易 龙,糜漫天 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)军事预防医学系营养与食品安全研究中心,重庆市医学营养研究中心,营养与健康重庆市重点实验室

[摘要] **目的** 探索吲哚-3-丙酸(indole-3-propionic acid,IPA)在高脂饮食诱导代谢相关脂肪性肝病(metabolic associated fatty liver disease,MAFLD)发生发展中的作用,揭示脂肪组织代谢在其中的作用及相关机制。**方法** 建立高脂饮食(high-fat diet,HFD)喂养诱导的 MAFLD 动物模型,6~7 周龄的雄性 C57BL/6J 小鼠按随机数字表法分为 3 组,即对照组(CON)、高脂饮食组(HFD)、高脂+IPA 干预组(HFD+IPA)。CON 组以对照饲料喂养,HFD 组和 HFD+IPA 组均以 60%高脂饲料喂养,实验周期为 12 周,第 7 周开始 HFD+IPA 组以 20 mg/(kg·d)IPA 灌胃 6 周。每周监测各组小鼠体质量与摄食量。干预结束后使用动物体成分分析仪检测小鼠体成分。小鼠处死后,HE 染色观察肝脏和脂肪组织形态学和结构变化,全自动血生化仪和生化试剂盒检测血清及肝脏和脂肪组织中脂代谢相关指标,qRT-PCR 检测脂代谢和炎性相关基因 mRNA 的表达。**结果** 与 CON 组相比,HFD 组小鼠体质量和体脂肪比例显著增加,肝脏出现明显的脂质沉积,血清丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转氨酶以及肝脏甘油三酯和总胆固醇水平显著升高($P<0.05$),肝组织脂肪酸转运分子 *CD36* 的 mRNA 水平明显升高($P<0.05$),IPA 干预显著逆转了上述变化($P<0.05$)。IPA 干预能够显著抑制高脂饮食诱导的内脏和棕色脂肪细胞增大,降低内脏脂肪组织(visceral adipose tissue,VAT)和血清中游离脂肪酸含量($P<0.05$),增加 VAT 脂解基因(*HSL*、*CGI58*)和棕色化(*Cidea*、*ND5*、*UCP1*、*Prdm16*)以及棕色脂肪组织(brown adipose tissue,BAT)脂肪酸 β 氧化(*Cpt1a*、*PPARα*)相关基因的 mRNA 表达水平($P<0.05$),同时降低 VAT 炎性因子 *TNF-α* 以及 BAT 中 *TNF-α*、*IL-1β*、*CXCL1*、*CCL2* 的 mRNA 表达水平($P<0.05$)。**结论** IPA 可以改善高脂饮食诱导的 MAFLD 的发生,其机制可能与调节白色和棕色脂肪组织结构、代谢功能及炎性相关基因的表达有关。

[关键词] 吲哚-3-丙酸;代谢相关脂肪性肝病;肝脏;内脏脂肪;棕色脂肪

[中图法分类号] R591.5; R575.5; R977.4 [文献标志码] A

Role and mechanism of indole-3-propionic acid improving metabolic associated fatty liver disease by regulating adipose tissue metabolism

YAO Yu, HOU Pengfei, ZHOU Min, LANG Hedong, LIU Minghua, YI Long, MI Mantian Research Center for Nutrition and Food Safety, Chongqing Key Laboratory of Nutrition and Health, Chongqing Medical Nutrition Research Center, Faculty of Military Preventive Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the role of indole-3-propionic acid (IPA) in the pathogenesis of metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) induced by high-fat diet (HFD) in order to reveal the role and related mechanism of adipose tissue metabolism in the process. **Methods** A mouse model of MAFLD was induced by HFD. Male C57BL/6J mice (6~7 weeks old) were randomly divided into control group (CON), HFD group, and HFD+IPA intervention group (HFD+IPA). The CON group was fed with control diet, and

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82173506)

* 同等贡献者

[通信作者] 糜漫天,E-mail:mantian_mi@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

the HFD group and HFD+IPA group were fed with 60% of high-fat diet. The experiment period was 12 weeks, and IPA was administered at 20 mg/(kg·d) for 6 weeks starting from the 7th week. The body weight and food intake of each group were monitored weekly. After the intervention, the body composition of mice was detected by animal body composition analyzer. After the mice were euthanized, the morphological and structural changes in the liver and adipose tissues were observed by HE staining, the indicators relevant to lipid metabolism in the serum, liver and adipose tissues were detected by automatic blood biochemical analyzer and biochemical kits, and the mRNA expression changes of lipid metabolism and inflammation related genes were detected by qRT-PCR. **Results** Compared with the CON group, the HFD group had significantly increased body weight and body fat percentage, obvious lipid deposition in the liver, obviously elevated serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, liver triglyceride and total cholesterol levels ($P<0.05$), and raised mRNA levels of liver fatty acid transporter *CD*36 ($P<0.05$), while IPA intervention significantly reversed the above changes ($P<0.05$). IPA intervention significantly inhibited the HFD-induced enlargement of visceral and brown fat cells, reduced the content of visceral adipose tissue (VAT) and serum level of free fatty acids ($P<0.05$), and increased the mRNA expression levels of VAT lipolysis (HSL, CGI58), browning genes (*Cidea*, *ND*5, *UCP*1, *Prdm*16) ($P<0.05$), as well as those of brown adipose tissue (BAT) lipolysis (*HSL*, *ATGL*) and fatty acid beta oxidation (*Cpt*1*a*, *PPARα*) genes ($P<0.05$). Meanwhile, the mRNA levels of *TNF-α*, *IL-*1*β*, *CXCL*1 and *CCL*2 in VAT and BAT were decreased after IPA intervention ($P<0.05$). **Conclusion** IPA can improve the occurrence of MAFLD induced by HFD, and its mechanism may be closely associated with its regulation of BAT and VAT morphology, and the mRNA expression of metabolic function and inflammation related genes.

[**Key words**] indole-3-propionic acid; metabolic related fatty liver disease; liver; visceral adipose tissue; brown adipose tissue

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82173506). YAO Yu and HOU Pengfei contributed equally to the article.
Corresponding author: MI Mantian, E-mail: mantian_mi@tmmu.edu.cn

代谢相关脂肪性肝病(metabolic dysfunction-associated fatty liver disease,MAFLD)是以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征[1],其全球患病率已上升至32.4%,成为全球重大公共卫生问题[2]。我国2023年6月最新发布的一项近600万的人群研究发现肝脏脂肪变性患病率已达44.39%[3]。目前生活方式改善及膳食营养干预仍是其主要防治措施,因此从膳食营养的角度探索MAFLD的防治措施至关重要。

近年来研究强调机体"代谢紊乱"诱导的肝内和肝外综合因素在肝脏脂质沉积中的核心作用。哺乳动物中,脂肪组织主要包括白色脂肪组织(white adipose tissue,WAT)和棕色脂肪组织(brown adipose tissue,BAT)。WAT是专门储存和代谢甘油三酯的组织,其脂肪细胞大小和代谢功能对维持全身能量平衡和脂代谢至关重要,尤其是内脏脂肪(visceral adipose tissue,VAT)活跃的高脂肪酸输出可通过门静脉流入肝脏组织,从而对肝脏脂代谢产生直接影响[4]。BAT内含有丰富的线粒体,是机体以非颤抖产热的形式将脂质代谢为热量耗散的组织,其促进脂肪代谢和产热功能对缓解肝脏脂质的蓄积有重要意义[5]。研究表明,高脂肪、高热量饮食会诱导脂肪组织功能障碍,主要表现在脂肪细胞增生与肥大、炎症细胞浸润和脂肪因子的分泌,从而促进脂质在肝脏的异位沉积,诱导MAFLD的发生[6-7]。因此WAT与BAT功能稳态维持对MAFLD发生至关重要。

近年来,"肝病肠治"理念在MAFLD防治中被逐渐推广,肠道内分泌蛋白,菌群代谢产物如次级胆汁酸、短链脂肪酸等在改善机体糖脂代谢紊乱和MAFLD的发生中尤为重要。吲哚-3-丙酸(indole-3-propionic acid,IPA)是一种来源于膳食色氨酸经肠道菌群代谢的重要内源性代谢产物[8]。研究发现IPA可以通过增加紧密连接蛋白的表达来维持肠屏障功能稳态,减少内毒素血症,缓解大鼠脂肪性肝炎的发生[9]。然而,IPA对高脂饮食诱导的肝脏脂代谢紊乱和MAFLD发生的代谢机制尚不明确。本研究通过高脂饮食诱导C57BL/6J小鼠建立MAFLD模型,在观察IPA对高脂饮食诱导MAFLD发生发展的作用基础上,深入研究内脏脂肪和棕色脂肪组织脂代谢功能在其中的作用及相关机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

IPA(纯度≥99%,220027)购自 Sigma-Aldrich;对照饲料(XTCON50)、高脂饲料(XTHF60)购自江苏省协同医药生物工程有限责任公司;甘油三酯(triglyceride,TG)(BC0625)、总胆固醇(total cholesterol,TC)(BC1985)、游离脂肪酸(free fatty acids,FFA)(BC0595)检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;谷丙转氨酶(alanine aminotransferase,ALT)(ALT01X)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase,AST)(AST01X)检测试剂购自重庆捷伦科技贸易发展有限公司;逆转录试剂盒(RK20429)和 SYBR RT-PCR 试剂盒(RK21203)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;qRT-PCR 引物由生工生物工程上海股份有限公司合成。

1.2 实验动物分组与干预

6~7 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 21 只,体质量 19~21 g,购自重庆莱彼特生物科技有限公司[SCXK(湘)2019-0004],于陆军军医大学 SPF 级实验动物中心饲养在恒温(22~25 ℃)、恒湿(50±5)%环境下,采用 12 h/12 h 昼夜明暗交替,自由饮水摄食。小鼠适应性饲养 1 周后按随机数字表法分为 3 组:正常对照组(CON)、高脂组(HFD)、高脂+IPA 干预组(HFD+IPA),每组 7 只。CON 组以对照饲料喂养,HFD 组和 HFD+IPA 组均以高脂饲料喂养,实验周期为 12 周,根据文献[9]从第 7 周开始 HFD+IPA 组以 20 mg/(kg·d)IPA 灌胃 6 周。每周记录各组小鼠体质量和摄食量,观察小鼠活动状态,干预至第 12 周末进行相应指标检测。本研究所有操作符合陆军军医大学实验动物福利和伦理的相关要求和规定(AMUWEC20211120)。

1.3 小鼠体成分检测

小鼠干预至 12 周末,按照小动物体成分分析仪(QMR06-090H-PRO,苏州纽迈分析仪器股份有限公司,中国)操作说明检测小鼠体成分。

1.4 组织病理学检测

取部分肝脏、内脏脂肪(附睾旁脂肪组织)、棕色脂肪组织(肩胛间棕色脂肪组织)固定在 4%的多聚甲醛组织固定液中,制成石蜡或冰冻切片,分别进行 HE 或油红 O 染色,利用全玻片扫描仪(VS120,Olympus,日本)采集图像。

1.5 血清生化指标检测

小鼠干预至 12 周末,麻醉后取眼眶血,置于室温 2 h 后,4 ℃、3 000 r/min 离心 15 min,取上层血清,参照试剂盒说明书检测血清中 TG、TC、ALT、AST 含量。

1.6 qRT-PCR 检测

按照 TRIzol reagent 试剂说明书提取肝脏、内脏脂肪和棕色脂肪组织总 RNA,利用微量核酸蛋白浓度测定仪(NANODROP2000,Thermo scientific,美国)检测提取的 RNA 浓度和 $D(260)/D(280)$ 比值,利用逆转录试剂盒逆转录为 cDNA,随后按照 SYBR Green Master Mix 试剂盒说明书配置 qRT-PCR 反应体系,采用实时荧光定量 PCR 仪(qTOWER2.2,成都立德赛科技有限公司,中国)进行扩增和检测,结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算分析目的基因的 mRNA 相对表达量。引物序列如表 1 所示。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列(5′→3′)
18s	上游:ACGGACCAGAGCGAAAGCAT
	下游:TGTCAATCCTGTCCGTGTCC
Cpt1a	上游:CACAACAACGGCAGAGCAGAG
	下游:ACACCACATAGAGGCAGAAGAGG
CD36	上游:GCGACATGATTAATGGCACAGAC
	下游:GATCCGAACACAGCGTAGATAGAC
TNF-α	上游: ATCAGTTCTATGGCCCAGACC
	下游:ACTTGGTGGTTTGCTACGAC
IL-1β	上游:AAAAAAGCCTCGTGCTGTCG
	下游:GTCGTTGCTTGGTTCTCCTTG
CXCL1	上游:ACCCGCTCGCTTCTCTGTG
	下游:ATTCTTGAGTGTGGCTATGACTTCG
CCL2	上游:CTCACCTGCTGCTACTCATTCAC
	下游:GTATGTCTGGACCCATTCCTTCTTG
ATGL	上游:CAGAGATGGACTTCGATTCCTT
	下游:CAGGTGCTCTAGAATTCGATCT
HSL	上游:AGAGACACCAGCCAACGGATAC
	下游:TTGCGGTTAGAAGCCACATAGC
CGI58	上游:TTTCTAGTAAGACGCCACTTGT
	下游:CATCACTGTCAAACCTAGGTCT
UCP1	上游:GGAGGTGTGGCAGTGTTCATTG
	下游:GCTTTCTGTGGTGGCTATAACTCTG
ND5	上游:CTGGCAGACGAACAAGACATCC
	下游:AGGGCGAGGCTTCCGATTAC
prdm16	上游:GCCGTTCAAGTGCCATCTGTG
	下游:CCTCGTGTTCGTGCTTCTTCAG
Cidea	上游:CCGTGTTAAGGAATCTGCTGAGG
	下游:GGATGGCTGCTCTTCTGTATCG
PPARα	上游:AGTCCATCGGTGAGGAGAGC
	下游:TGGAAGCTGGAGAGAGGGTG

1.7 统计学分析

实验数据利用 SPSS25.0 软件进行统计分析,用 GraphPad Prism 9.0 软件作图。多组数据比较采用单因素方差分析,其中两两比较采用 LSD 法检验,当 $P<0.05$ 时差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 IPA 改善高脂饮食诱导的小鼠体质量增加和体成分变化

如图 1A、B 所示,3 组小鼠初始体质量差异无统计学意义,至实验结果时,HFD 组体质量显著增加,而 IPA 干预显著减缓体质量增加($P<0.05$)。图 1C 显示,各组小鼠摄食量无显著差异。干预结束后小鼠体成分检测发现(表 2),HFD 饮食显著增加体脂肪质量和比例并降低肌肉比例;而 IPA 可改善 HFD 饮食导致的脂肪和肌肉的比例变化($P<0.05$)。结果表明,IPA 能够改善 HFD 诱导的体质量增加和体成分变化,其机制与调节脂肪功能密切相关。

2.2 IPA 改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏结构和功能异常

小鼠肝脏 HE 染色结果显示(图 2A),与 CON 组相比,HFD 组小鼠大泡性肝细胞脂肪变性增多,而 IPA 干预改善了 HFD 诱导的肝脏病理变化特征,但其肝指数未见显著变化(图 2B)。如图 2C、D 显示,与 CON 组相比,HFD 组小鼠血清中 ALT 和 AST 水平均升高,IPA 干预降低了 ALT 和 AST 水平($P<0.05$)。结果表明,IPA 能够改善高脂饮食诱导的肝脏结构和功能异常。

2.3 IPA 改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂质沉积

肝脏组织油红 O 染色结果显示(图 3A),IPA 干预显著改善 HFD 组小鼠肝脏组织的脂质沉积。如图 3B~E 所示,HFD 组小鼠血清和肝脏组织中 TG 和 TC 含量均升高,IPA 干预降低 TG 和 TC 含量($P<0.05$)。qRT-PCR 检测相关基因表达水平发现(图 3F、G),IPA 干预组 *Cpt1a* mRNA 升高,*CD36* mRNA 的表达水平降低($P<0.05$)。结果表明,IPA 能够改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂质沉积,其机制可能与减少脂肪酸转运分子 *CD36* 的 mRNA 表达水平,增加脂肪酸 β 氧化分子 *Cpt1a* 的 mRNA 表达水平有关。

2.4 IPA 改善高脂饮食诱导的小鼠内脏脂肪组织结构异常

进一步研究 IPA 对内脏脂肪组织和棕色脂肪组织的作用,如图 4A、B 显示,与 CON 组相比,HFD 组内脏脂肪细胞增大,IPA 干预后减小($P<0.05$)。同时,IPA 干预降低了 HFD 引起的内脏脂肪组织质量的升高($P<0.05$,图 4C)。结果表明,IPA 干预能够改善高脂饮食诱导的内脏脂肪组织结构异常。

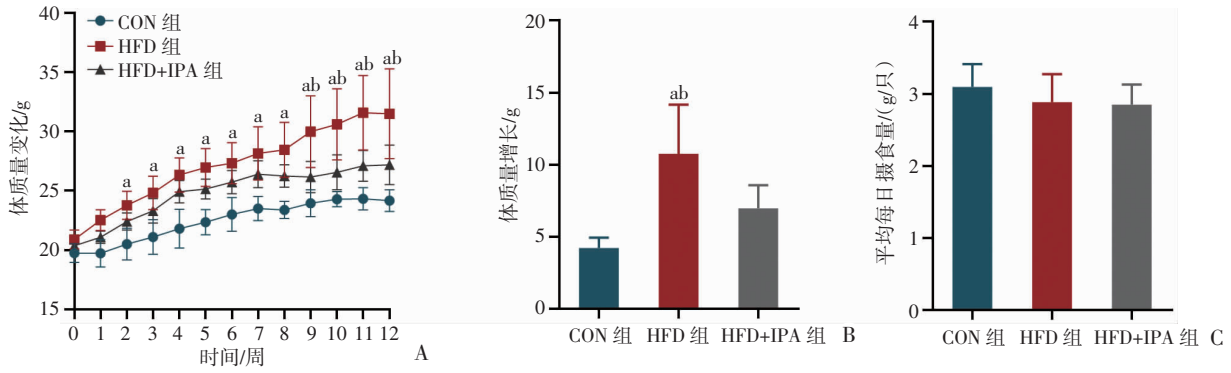
2.5 IPA 改善高脂饮食诱导的小鼠内脏脂肪组织炎症与脂代谢异常

检测血清和内脏脂肪组织中游离脂肪酸含量显示(图 5A、B),IPA 干预显著改善 HFD 诱导的血清和内脏脂肪组织中游离脂肪酸升高($P<0.05$)。此外,脂肪组织过度炎症与脂肪组织功能障碍密切相关,结果发现(图 5C),IPA 干预抑制了 HFD 诱导的 *TNF-α* 表达升高($P<0.05$)。进一步检测脂质分解和棕色化相关基因发现(图 5D、E),与 HFD 组相比,IPA 干预增加了 *HSL*、*CGI58* 脂解基因($P<0.05$)以及棕色化相关基因 *Cidea*、*ND5*、*UCP1*、*Prdm16* 的表达($P<0.05$)。结果提示 IPA 可能通过调节内脏脂肪细胞炎症反应、脂代谢与棕色化相关基因的表达进而改善内脏脂肪功能异常。

表 2 干预结束后各组小鼠体成分检测结果($\bar{x}\pm s$)

组别	体质量/g	肌肉质量/g	肌肉比例/%	体脂肪质量/g	体脂肪比例/%	自由水质量/g	自由水比例/%
CON 组	23.90±1.02	17.51±0.83	73.25±1.39	0.34±0.32	1.40±1.32	0.98±0.06	4.10±0.25
HFD 组	31.58±4.07[a]	18.94±1.17	60.83±8.88[a]	5.65±3.84[a]	16.98±9.23[a]	1.33±0.35	4.26±1.26
HFD+IPA 组	25.87±1.54[b]	18.26±1.68	70.50±4.77[b]	2.63±1.06	10.22±4.36[b]	1.40±0.30	5.41±1.07

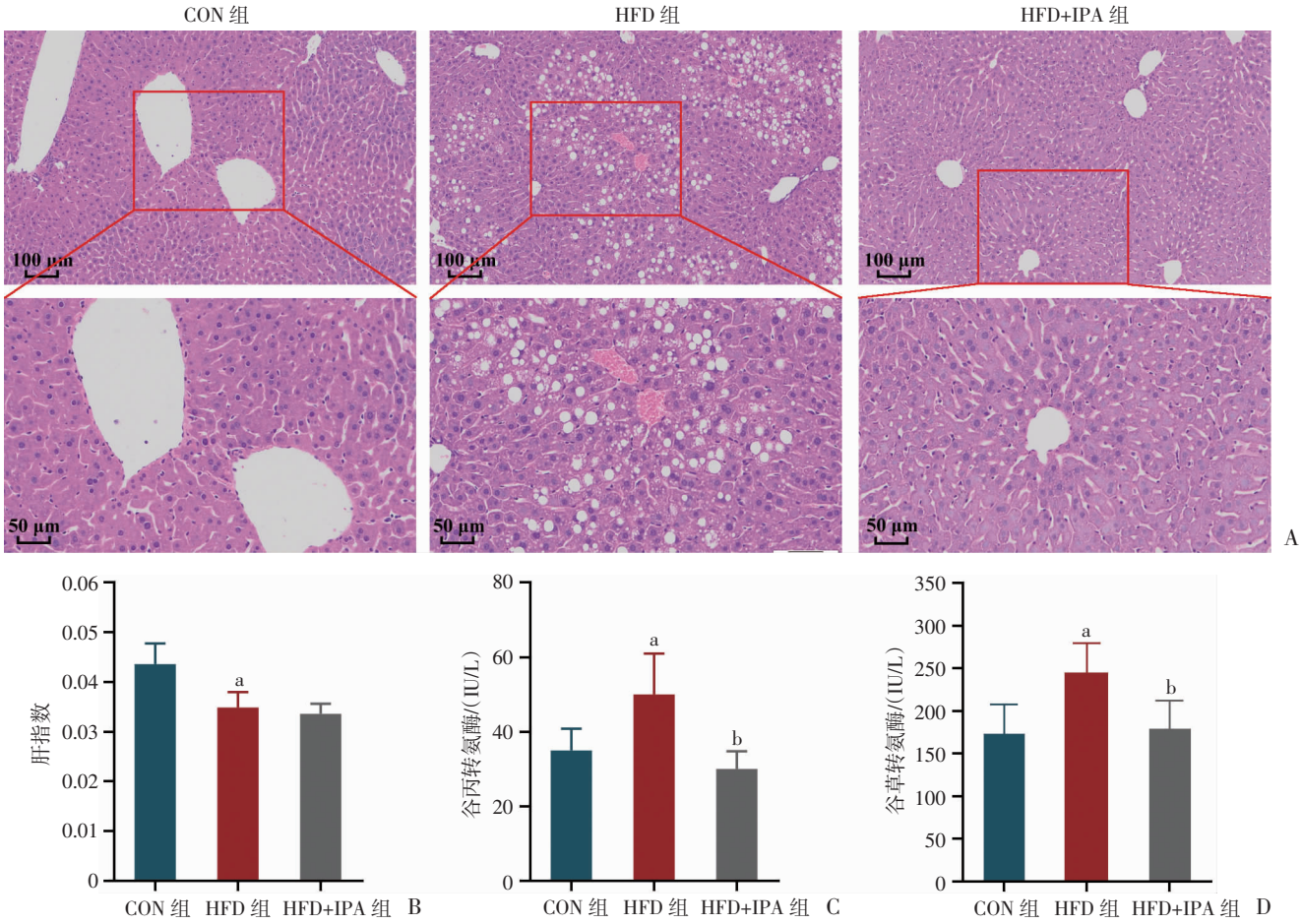
a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 HFD 组比较



a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 HFD+IPA 组比较

A:小鼠体质量变化;B:小鼠 12 周体质量的增长;C:小鼠平均每日摄食量

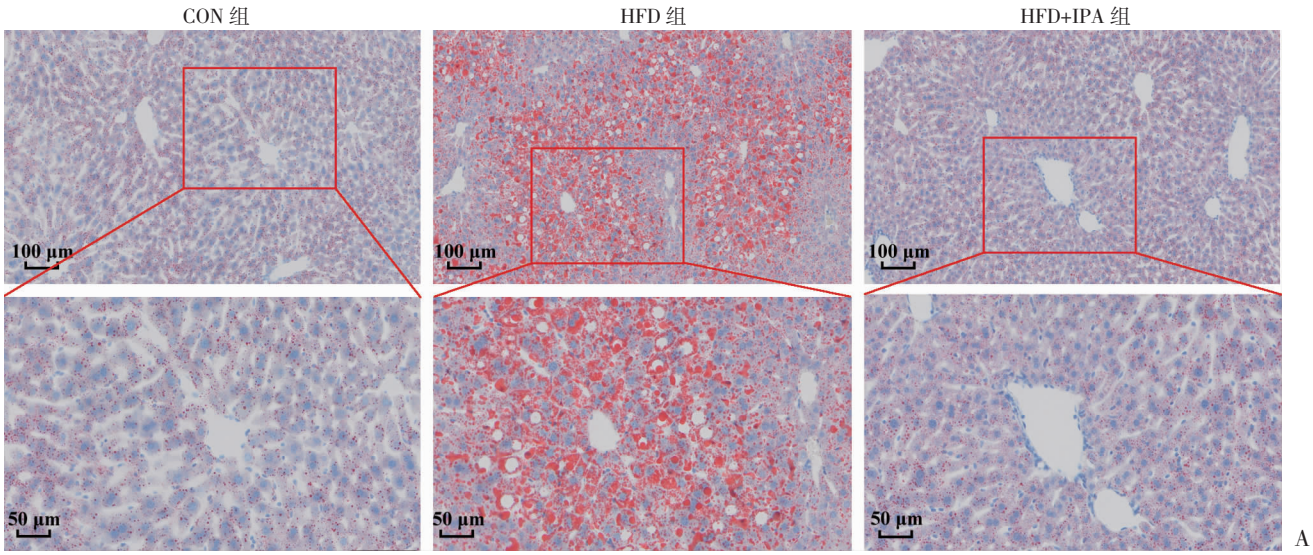
图 1 各组小鼠基础指标



a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 HFD 组比较

A:小鼠肝脏 HE 染色结果;B:小鼠肝指数;C:血清中谷丙转氨酶水平;D:血清中谷草转氨酶水平

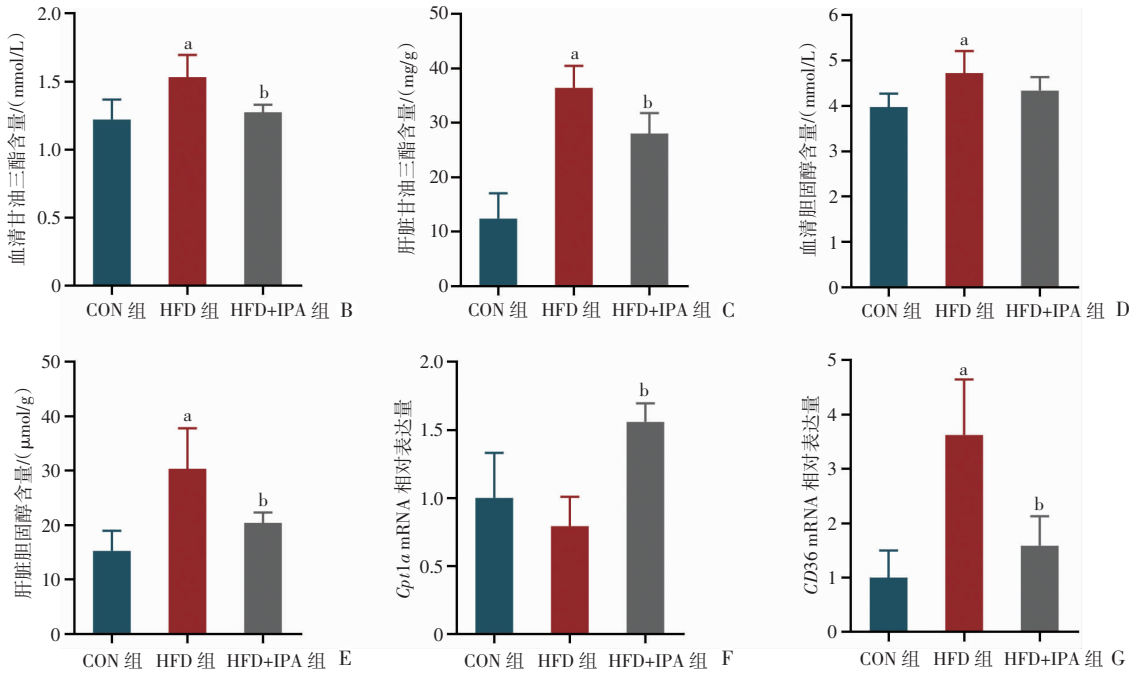
图 2 各组小鼠肝脏病理及肝功能相关指标



A:小鼠肝脏油红 O 染色

图 3 各组小鼠肝脏脂质沉积与脂代谢相关基因 mRNA 的表达

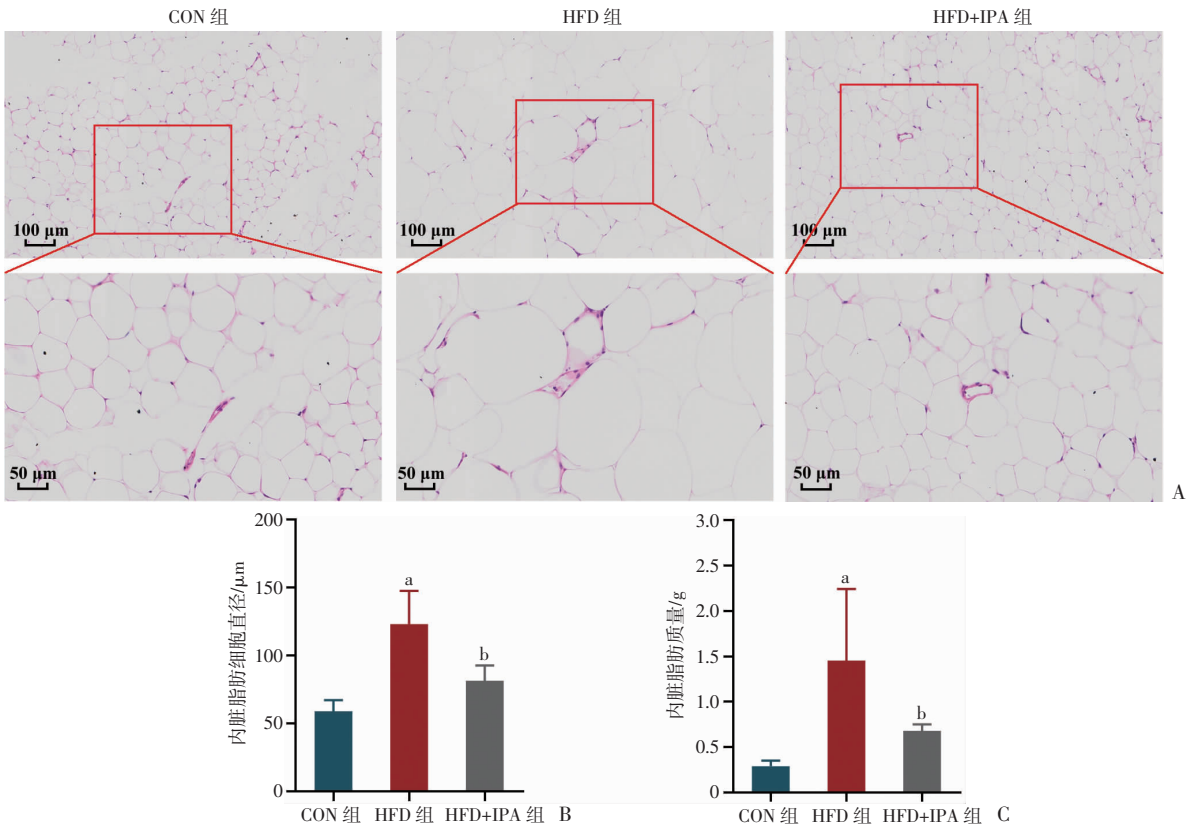
(图 3B~G 续下页)



a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 HFD 组比较

B:小鼠血清甘油三酯含量;C:小鼠肝脏组织甘油三酯含量;D:小鼠血清总胆固醇含量;E:小鼠肝脏组织总胆固醇含量;F:*Cpt1a* mRNA 相对表达量;G:*CD36* mRNA 相对表达量

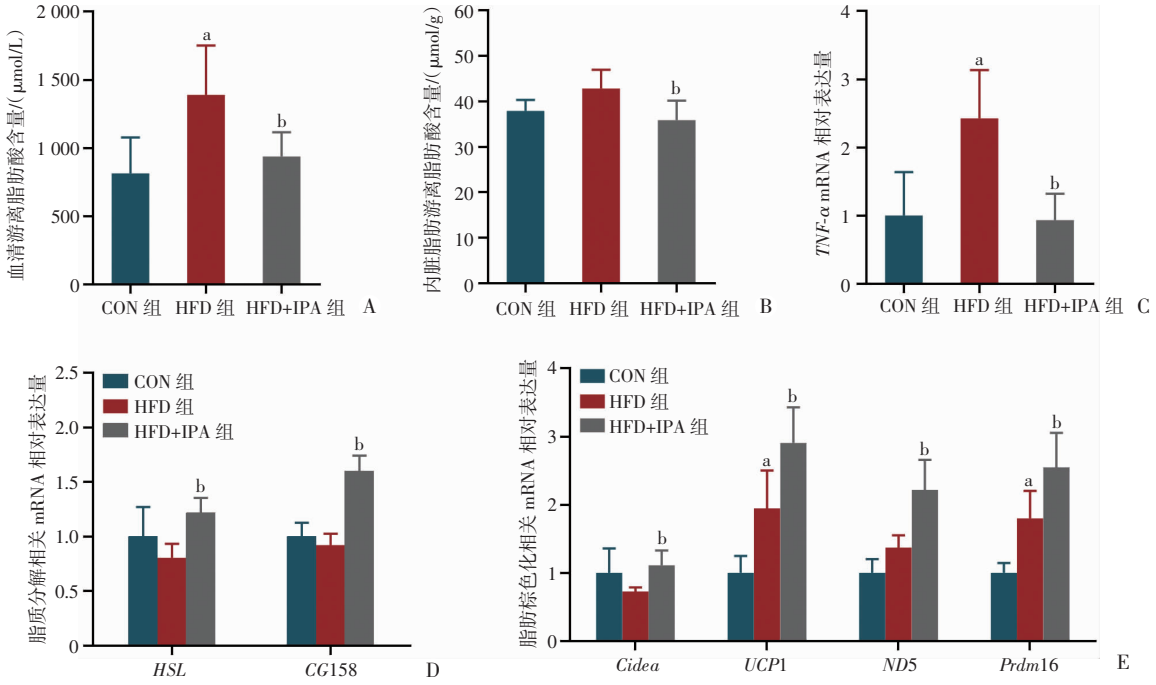
续图 3 各组小鼠肝脏脂质沉积与脂代谢相关基因 mRNA 的表达



a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 HFD 组比较

A:小鼠内脏脂肪 HE 染色;B:小鼠内脏脂肪细胞直径;C:小鼠内脏脂肪质量

图 4 各组小鼠内脏脂肪组织形态与质量变化



a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 HFD 组比较

A:小鼠血清中游离脂肪酸含量;B:小鼠内脏脂肪中游离脂肪酸含量;C:*TNF-α* mRNA 相对表达量;D:脂质分解相关 mRNA 相对表达量;E:脂肪棕色化相关 mRNA 相对表达量

图 5 各组小鼠内脏脂肪代谢与炎性相关基因 mRNA 的表达

2.6 IPA 改善高脂饮食诱导的小鼠棕色脂肪组织结构异常

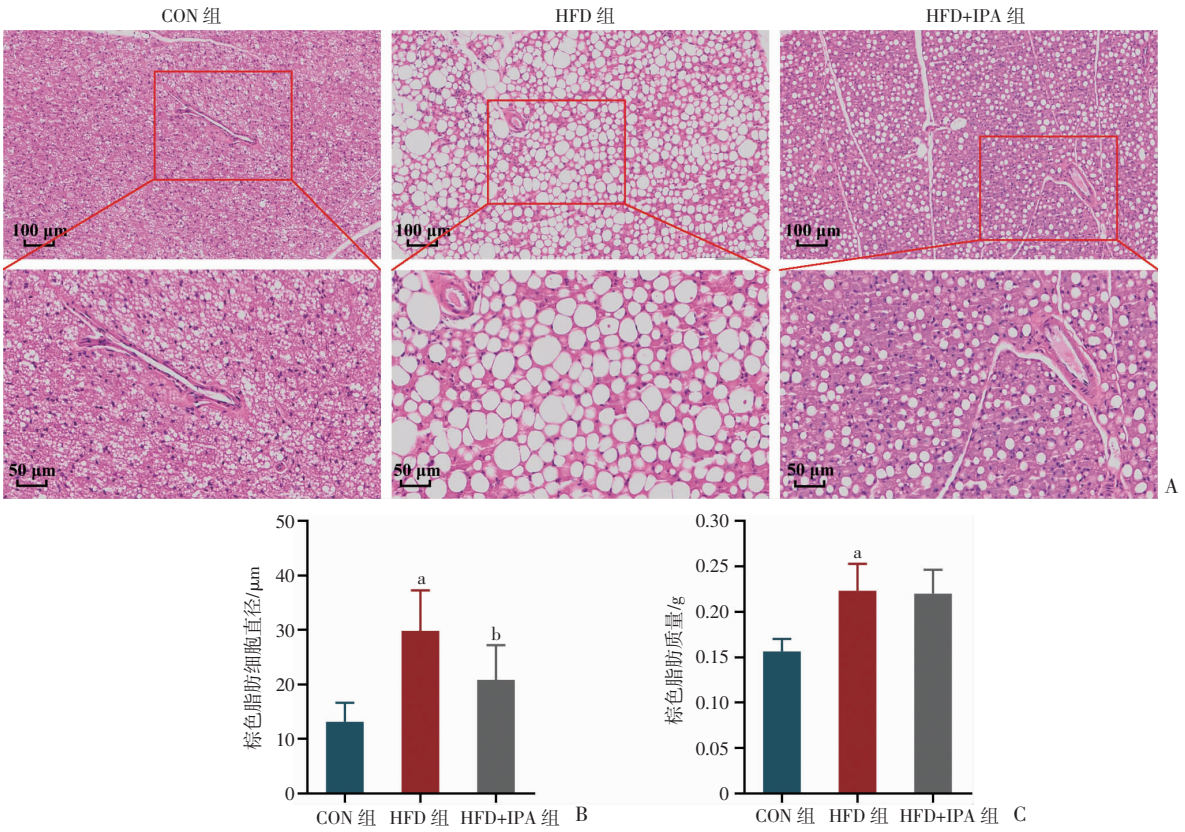
如图 6A 显示,与 CON 组相比,HFD 组棕色脂肪细胞显著增大,IPA 干预后减小($P<0.05$)。对棕色脂肪细胞直径统计分析结果也表明(图 6B),IPA 干预减小了 HFD 引起的棕色脂肪细胞直径增大($P<0.05$)。但是 IPA 干预对棕色脂肪组织质量无显著影响(图 6C)。结果表明,IPA 干预能够改善高脂饮食诱导的棕色脂肪组织结构异常。

2.7 IPA 改善高脂饮食诱导的小鼠棕色脂肪组织炎症与脂代谢异常

检测棕色脂肪组织脂质分解相关基因发现(图 7A),HFD+IPA 组与 HFD 组相比增加了 *ATGL*、*HSL* 的表达($P<0.05$)。检测脂肪酸 β-氧化相关基因发现(图 7B),与 HFD 组相比,IPA 干预增加了 *Cpt1a*、*PPARα* 的表达($P<0.05$)。进一步检测炎症和趋化因子相关基因的表达发现(图 7C、D),与 HFD 组相比,IPA 干预后 *TNF-α*、*IL-1β*、*CXCL1*、*CCL2* 表达均降低($P<0.05$)。结果提示 IPA 可能通过影响棕色脂肪组织中脂代谢、促炎因子与趋化因子相关基因的表达进而改善棕色脂肪组织炎症与代谢异常。

3 讨论

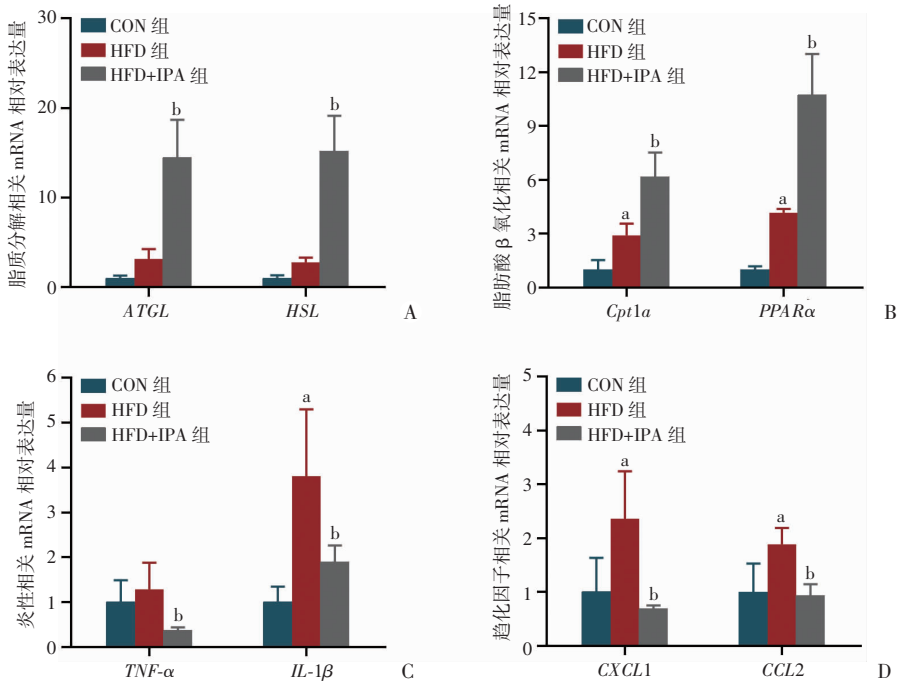
随着社会发展,高热量饮食引起的代谢紊乱和代谢异常日益严重,进而诱导脂肪肝等代谢性疾病的发病率逐年递增,目前尚无有效的防治措施。许多研究表明,膳食中必需氨基酸之一的色氨酸代谢失调在多种代谢性疾病发病机制中起着重要作用,吲哚-3-丙酸(IPA)作为肠道菌群产生的一种内源性色氨酸代谢物,其在代谢相关疾病的防治中逐渐受到关注。本研究发现 IPA 可以显著改善高脂饮食诱导的体质量以及肝脏脂质沉积和肝损伤,其机制与调节脂肪组织功能密切相关,为 MAFLD 提供了新的防治策略和实验依据。IPA 主要通过厚壁菌门中的乳酸杆菌、生孢梭菌、肉毒梭状芽胞杆菌等代谢膳食色氨酸产生[10-11],其与多个代谢性疾病的发生密切相关。我国的一个前瞻性队列研究表明,血浆色氨酸和 IPA 水平与冠心病患者的死亡风险降低显著相关[12]。同时多项临床研究表明血浆 IPA 水平与 2 型糖尿病、胰岛素抵抗、肥胖、肝纤维化之间存在负相关关系[13-14]。本研究证实了 IPA 能够显著降低高脂诱导小鼠体质量和脂肪比例的升高,同时增加肌肉含量,有效改善高脂诱导小鼠出现的肝脏脂质沉积,降低肝脏中 ALT、AST、TG、TC 的水平,并且发现 IPA 干预可以显著降低肝脏组织脂肪酸转运分子 *CD36* 的表达,表明 IPA 改善 MAFLD 发生的机制可能与调节肝脏游离脂肪酸的摄取密切相关。



a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 HFD 组比较

A:小鼠棕色脂肪 HE 染色;B:小鼠棕色脂肪细胞直径;C:小鼠棕色脂肪质量

图 6 各组小鼠棕色脂肪组织形态与质量变化



a:$P<0.05$,与 CON 组比较;b:$P<0.05$,与 HFD 组比较

A:脂质分解相关 mRNA 相对表达量;B:脂肪酸 β 氧化相关 mRNA 相对表达量;C:炎性相关 mRNA 相对表达量;D:趋化因子相关 mRNA 相对表达量

图 7 各组小鼠棕色脂肪代谢和炎性相关基因 mRNA 的表达

脂肪组织作为人体脂肪储存和能量代谢的重要器官,其脂解作用诱导的游离脂肪酸通过门静脉系统被转运到肝脏是导致 MAFLD 发生发展的关键机制[15]。本研究进一步发现 IPA 能够显著改善高脂饮食引起的内脏和棕色脂肪细胞的增大,降低 VAT 和血清中 FFA 的含量,而分子生物学结果同样也提示 IPA 增加了 VAT 脂解基因(*HSL*,*CGI*58)和棕色化相关基因(*Cidea*、*ND*5、*UCP*1、*Prdm*16)的 mRNA 表达。因此,IPA 可能通过增强 VAT 白色脂肪棕色化进而增加脂肪酸的利用,从而降低血清中游离脂肪酸的水平。与此同时,IPA 干预增加了 BAT 脂解基因(*HSL*、*CGI*58)和脂肪酸氧化相关基因(*Cpt*1*a*、*PPARα*)的 mRNA 表达。因此,IPA 可能通过增加 BAT 中脂质代谢和产热功能来促进脂质的利用,改善肝脏的脂质异位沉积。另外有研究表明,肥大的脂肪细胞表现出脂肪分解增加,释放大量的 FFA,可以激活巨噬细胞表面 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4,TLR4),并通过 NF-κB 信号增加促炎细胞因子包括 *TNF-α*、*IL-1β*、*IL-6* 等的释放,从而促进机体糖脂代谢紊乱[16]。本研究发现 IPA 显著降低了 VAT 炎性因子 *TNF-α* 以及 BAT 中 *TNF-α*、*IL-1β*、*CXCL*1、*CCL*2 的表达,缓解了脂肪组织炎症反应,改善了脂肪组织功能,然而进一步的分子机制和作用靶点需要深入研究阐明。

综上所述,IPA 可以改善高脂饮食诱导的肝脏脂质沉积和肝脏结构与功能异常,对 MAFLD 的发生发展有保护作用,其机制可能与调节内脏白色脂肪组织和肩胛间棕色脂肪组织结构、代谢功能及炎性相关基因的表达有关,为 MAFLD 的防治提供科学依据和膳食营养干预策略。

参考文献:

[1] ESLAM M, SANYAL A J, GEORGE J, *et al*. MAFLD: a consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease[J]. Gastroenterology, 2020, 158(7): 1999-2014.e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.11.312.

[2] RIAZI K, AZHARI H, CHARETTE J H, *et al*. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7(9): 851-861. DOI: 10.1016/S2468-1253(22)00165-0.

[3] MAN S, DENG Y H, MA Y, *et al*. Prevalence of liver steatosis and fibrosis in the general population and various high-risk populations: a nationwide study with 5.7 million adults in China[J]. Gastroenterology, 2023, 165(4): 1025-1040. DOI: 10.1053/j.gastro.2023.05.053.

[4] FANG H J, BERG E, CHENG X G, *et al*. How to best assess abdominal obesity[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2018, 21(5): 360-365. DOI: 10.1097/mco.0000000000000485.

[5] ZHOU X Y, LI Z L, QI M H, *et al*. Brown adipose tissue-derived exosomes mitigate the metabolic syndrome in high fat diet mice[J]. Theranostics, 2020, 10(18): 8197-8210. DOI: 10.7150/thno.43968.

[6] KAHN C R, WANG G X, LEE K Y. Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome[J]. J Clin Investig, 2019, 129(10): 3990-4000. DOI: 10.1172/jci129187.

[7] CIFARELLI V, BEEMAN S C, SMITH G I, *et al*. Decreased adipose tissue oxygenation associates with insulin resistance in individuals with obesity[J]. J Clin Invest, 2020, 130(12): 6688-6699. DOI: 10.1172/JCI141828.

[8] ROSE D. Aspects of tryptophan metabolism in health and disease: a review[J]. J Clin Pathol, 1972, 25: 17-25. DOI: 10.1136/jcp.25.1.17.

[9] ZHAO Z H, XIN F Z, XUE Y Q, *et al*. Indole-3-propionic acid inhibits gut dysbiosis and endotoxin leakage to attenuate steatohepatitis in rats[J]. Exp Mol Med, 2019, 51(9): 1-14. DOI: 10.1038/s12276-019-0304-5.

[10] DODD D, SPITZER M H, VAN TREUREN W, *et al*. A gut bacterial pathway metabolizes aromatic amino acids into nine circulating metabolites[J]. Nature, 2017, 551(7682): 648-652. DOI: 10.1038/nature24661.

[11] WLODARSKA M, LUO C W, KOLDE R, *et al*. Indoleacrylic acid produced by commensal *Peptostreptococcus* species suppresses inflammation[J]. Cell Host Microbe, 2017, 22(1): 25-37.e6. DOI: 10.1016/j.chom.2017.06.007.

[12] LI Q, YOU Y R, ZENG Y P, *et al*. Associations between plasma tryptophan and indole-3-propionic acid levels and mortality in patients with coronary artery disease[J]. Am J Clin Nutr, 2022, 116(4): 1070-1077. DOI: 10.1093/ajcn/nqac170.

[13] DE MELLO V D, PAANANEN J, LINDSTRÖM J, *et al*. Indolepropionic acid and novel lipid metabolites are associated with a lower risk of type 2 diabetes in the Finnish Diabetes Prevention Study[J]. Sci Rep, 2017, 7: 46337. DOI: 10.1038/srep46337.

[14] SEHGAL R, ILHA M, VAITTINEN M, *et al*. Indole-3-propionic acid, a gut-derived tryptophan metabolite, associates with hepatic fibrosis[J]. Nutrients, 2021, 13(10): 3509. DOI: 10.3390/nu13103509.

[15] AZZU V, VACCA M, VIRTUE S, *et al*. Adipose tissue-liver cross talk in the control of whole-body metabolism: implications in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Gastroenterology, 2020, 158(7): 1899-1912. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.12.054.

[16] PEISELER M, SCHWABE R, HAMPE J, *et al*. Immune mechanisms linking metabolic injury to inflammation and fibrosis in fatty liver disease- novel insights into cellular communication circuits[J]. J Hepatol, 2022, 77(4): 1136-1160. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.06.012.

(收稿:2023-09-11;修回:2023-12-03)

(编辑 邓强庭)