

柚皮素对高脂与高糖诱导的小鼠非酒精性脂肪肝病的干预作用

葛晶晶^{1,2}, 阮征^{1,2*}

(¹南昌大学食品学院 南昌 330047

²食品科学与资源挖掘全国重点实验室(南昌大学) 南昌 330047)

摘要 目的:研究柚皮素(NAR)对高脂、高糖诱导的小鼠非酒精性脂肪肝病(NAFLD)的保护作用及机制。方法:采用高脂、高糖饮食喂养小鼠,建立非酒精性脂肪肝病模型。造模过程灌胃给药,9周后观察其体质量、附睾脂肪质量、肝脏质量,测定小鼠血清和肝脏甘油三酯水平以及血清 ALT、AST 等生化指标水平。使用 ELISA 测定肝脏炎症因子水平和血清脂多糖水平,观察小鼠肝脏组织病理变化。使用从大肠杆菌中获取的脂多糖抗体,确定小鼠肝脏菌群衍生脂多糖的定位。结果:柚皮素能显著降低高脂、高糖诱导的非酒精性脂肪肝病小鼠的体质量($P<0.001$)、肝脏质量的升高($P<0.01$),降低小鼠肝脏和血清 TG 水平($P<0.05$),血清中 ALT($P<0.05$)、AST 水平($P<0.01$),改善肝脏脂肪变性和脂质堆积。同时,柚皮素还可通过降低肠道通透性来减少小鼠肝脏中菌群衍生 LPS 的定位($P<0.01$)。结论:初步揭示柚皮素可能通过调控降低肠道通透性来减少进入小鼠肝脏中的菌群衍生 LPS,从而减轻肝脏炎症,起到缓解高脂、高糖诱导的小鼠非酒精性脂肪肝病的作用。

关键词 非酒精性脂肪肝;柚皮素;脂多糖;肠道通透性

文章编号 1009-7848(2023)09-0060-07 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.09.007

非酒精性脂肪肝(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种高度流行的肝脏疾病,它与肥胖和代谢性疾病密切相关,其特点是在没有过度饮酒和其它继发性肝脂肪变性的情况下,脂肪在 5%以上的肝细胞内积聚。NAFLD 是非酒精性肝炎(NASH)的早期阶段,也是肝细胞癌的主要原因,同时增加一系列疾病的发病风险。近年来,也有人提出代谢性脂肪肝病(metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD)的术语来替代 NAFLD,提供更广泛的诊断标准,即存在脂肪变性,同时存在以下一种或多种症状,包括超重或肥胖、II 型糖尿病、两种或两种以上代谢风险异常^[1]。欧洲和亚洲的患病率最高,其次是北美。一项历时 4.6 年,6 873 人参与的队列研究调查了 MAFLD 在中国的流行和发病率^[2],报告显示,NAFLD 和 MAFLD 的患病率分别为 40.3%和 46.7%。近年来,NAFLD 在我国的发病率有较明显的增长趋势,到 2030 年,中国 NAFLD 患者总数预计将增至 3.1458 亿人^[3]。

研究证明,肠道菌群紊乱引起的肠道通透性增加,在 NAFLD 的发生、发展中起着重要作用^[4]。通过提升肠道通透性,增加循环中的有毒细菌代谢产物,如乙醇和脂多糖(Lipopolysaccharides, LPS)。这些代谢物将通过门静脉进入肝脏,引起炎症和脂肪变性^[5]。另外,有研究^[6]发现 NAFLD 患者肝脏中存在高水平的菌群来源的 LPS 定位,提示菌群来源的 LPS 在 NAFLD 的进展中发挥重要作用,同时强调了肠-肝轴的作用。综上,肠道通透性的降低对解决非酒精脂肪肝病具有潜在影响。

柑橘类黄酮是柑橘中的活性成分,价格便宜,容易获得,具有广泛的降脂、抗炎、抗氧化和降血糖的作用。大量研究表明,柑橘类黄酮可以改善 NAFLD 的症状,如调节脂质代谢、代谢紊乱^[7-9]和在代谢重要组织如肝脏中减轻炎症反应。柚皮素(Naringenin)是类黄酮的一种。此前的研究表明,柚皮素对脂质积累和肝脏脂肪变性有显著影响^[10]。柚皮素的保肝作用也表现在抗炎生物活力^[11],Tshako 等^[12]发现柚皮素能抑制短期高脂诱导小鼠脂肪组织的炎性浸润。此外,柚皮苷(柚皮素的糖苷形式)可以促进肠道屏障,降低肠道通透性^[13]。

Asgharpour 等^[14]对 C57BL/6J 小鼠饲喂高脂肪、高糖饮食后发生脂肪变性和脂肪性肝炎,小鼠

收稿日期:2022-09-21

基金项目:国家自然科学基金项目(32060539);江西省重点研发计划项目(20192ACB60006)

第一作者:葛晶晶,女,硕士

通信作者:阮征 E-mail: ruanzheng@ncu.edu.cn

表现出与人类疾病相似的代谢特征、脂质积累和组织学改变。此外,果糖在 NAFLD 中有额外的作用,果糖损伤肠道屏障,导致肠道渗漏、内毒素血症^[15-16]。动物模型表明,果糖诱导的 NAFLD 与肠道微生物过度生长引起的肠道通透性增加有关^[17-18]。本试验选择高脂、高糖饮食诱导小鼠 NAFLD,研究柚皮素对小鼠 NAFLD 的缓解作用,同时通过检测肝脏菌群衍生 LPS 定位,研究柚皮素是否通过肠肝轴效应影响 NAFLD。

1 材料与方 法

1.1 实验动物、材料与试剂

6 周龄雄性清洁级小鼠,体质量(20±2)g,由北京斯贝福生物科技有限公司提供。

甘油三酯(TG)试剂盒,南京建成生物工程研究所;白细胞介素-6(IL-6)试剂盒、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、脂多糖 LPS 试剂盒,上海酶联生物科技有限公司;鼠单克隆大肠杆菌 LPS 抗体(ab35654),艾博抗(上海)贸易有限公司;苏木素-伊红(H&E)染液(B1002),武汉佰仟度生物试剂有限公司;鼠维持饲料和高脂模型饲料,江苏协同生物有限公司;果糖,山东百龙创园生物科技有限公司;柚皮素(>90%),西安瑞林生物科技有限公司。其它试剂均为分析纯级。

1.2 仪器与设备

SMR60047 多功能酶标检测仪,USCNK;Nikon Eclipse CI 正置光学显微镜,日本尼康;Nikon Eclipse E100 倒置荧光显微镜,日本尼康;NIKONDS-U3 成像系统 Image-Pro Plus 6,日本尼康;AU5800 全自动生化分析仪,Beckman Coulter 公司;3K15 高速冷冻离心机,德国 Sigma 公司。

1.3 方法

1.3.1 NAFLD 小鼠模型建立 雄性健康的 C57BL/6J 小鼠饲喂于 SPF 级鼠房,室温(24±2)℃,相对湿度(45±3)%,光照 12 h/d,小鼠适应性喂养 1 周后,将 18 只小鼠随机分为 3 组,对照组(NCD)喂食普通饲料,模型组(HFFD)及柚皮素(NAR)组饲喂高脂饲料(60%能量来自脂肪)及果糖水(质量浓度为 30 g/100 mL),NAR 组每天以 0.4 g/(kg·d)剂量灌胃,NCD 组和 HFFD 组分别给

予等量生理盐水。所有小鼠自由摄取食物及饮水。连续喂养 9 周后,所有小鼠禁食不禁水 12 h,眼球取血后采用脱颈法处死小鼠,取出肝脏,最小叶用 4%多聚甲醛固定,HE 染色,切片,进行组织病理学检查和免疫荧光染色;其余肝脏液氮速冻后保存于-80℃冰箱直到测试。

1.3.2 指标测定 采用全自动生化分析仪测定血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、脂多糖水平及二胺氧化酶(Diamine Oxidase, DAO)水平。使用商用试剂盒测定血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)浓度、肝脏中 TG 浓度。采用 ELISA 法检测血清 LPS 水平和肝脏促炎细胞因子、白细胞介素(IL)-6 和肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平。酶联免疫吸附试验按照说明书的方法进行。

1.3.3 肝组织病理形态与免疫荧光组织化学分析

用苏木精和曙红(H&E)染色石蜡切片(4 μ m 厚),于光学显微镜下观察(200×与 400×视野)。免疫荧光步骤如下:石蜡切片脱蜡至水,抗原修复,BSA 封闭,加一抗 4℃封闭过夜,脱色后加二抗避光室温孵育 50 min,DAPI 复染细胞核,封片,于尼康倒置荧光显微镜下观察并采集图像。(紫外激发波长 330~380 nm,发射波长 420 nm;FITC 绿光激发波长 465~495 nm,发射波长 515~555 nm;CY3 红光激发波长 510~560,发射波长 590 nm)。在倒置荧光显微镜下观察(100×与 200×视野)。拍照时尽量让组织充满整个视野,保证每张照片的背景光一致。应用 Image-Pro Plus 6.0 软件将绿色/红色荧光单色照片转换为黑白图片,然后选取相同的黑色作为判断所有照片阳性的统一标准,对每张照片进行分析得出每张照片阳性的累积光密度值(IOD)以及组织的像素面积(AREA)。并求出平均光密度值 IOD/AREA(Mean Density)。

1.4 数据处理

所有数据采用 SPSS22.0 统计软件进行处理,采用一般描述性统计数据进行分析,使用 Graphpad8.0 作图,数据表示为 $\bar{x} \pm s$ (平均值±标准差), $P<0.05$ 认为组间存在显著性差异, $P<0.01$ 与 $P<0.001$ 认为组间存在极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 NAR 降低诱导的 NAFLD 小鼠体质量、肝脏质量及附睾脂肪质量。

如表 1 所示, 试验开始前, 各组小鼠体质量无显著差异。9 周后, HFFD 组小鼠相对 NCD 组体质量极显著增长 ($P<0.001$), 肝脏质量 ($P<0.001$)、附

睾脂肪质量 ($P<0.01$) 均极显著升高; 同时, 相对 HFFD 组, NAR 组小鼠体质量、肝脏质量显著下降, NAR 组附睾脂肪质量与模型组无显著差异。表明 NAR 干预可显著抑制高脂、高糖饮食诱导的体质量增长, 减轻肝脏肿胀。

表 1 NAR 降低高脂、高糖诱导的 NAFLD 小鼠体质量、肝脏质量及附睾脂肪质量 ($n=6$)

Table 1 Naringenin reduce the body weight, liver weight, epididymis fat in NAFLD mice fed with HFFD ($n=6$)

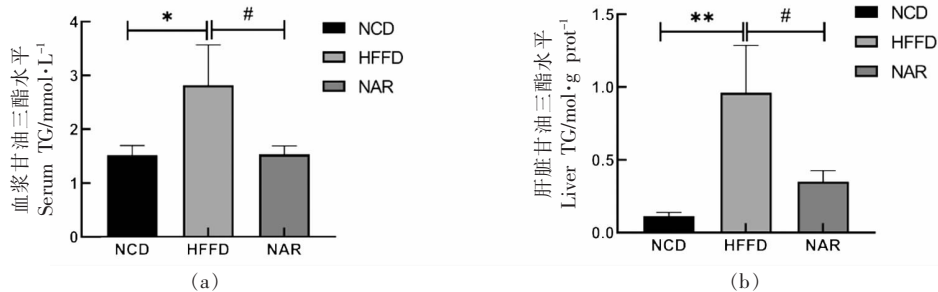
生长指标	NCD(对照组)	HFFD(模型组)	NAR(干预组)
初始体质量/g	22.4 ± 0.62	22.28 ± 1.14	22.83 ± 0.37
结束体质量/g	25.7 ± 0.61	38.25 ± 3.72***	33.55 ± 2.8#
附睾脂肪质量/g	0.51 ± 0.09	1.98 ± 0.65**	1.51 ± 0.52
肝质量/g	0.96 ± 0.07	1.85 ± 0.34**	1.01 ± 0.08##

注: 与 NCD 组相比 * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; 与 HFFD 组相比 # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$ 。

2.2 NAR 降低诱导的 NAFLD 小鼠血清和肝脏甘油三酯水平

如图 1 所示, 与 NCD 组相比, HFFD 组血清 TC、TG、肝脏 TG 水平显著升高。NAR 灌胃显著降

低了血清 TG 和肝脏 TG 水平。这些结果表明, NAR 可以减轻 NAFLD 小鼠血清与肝脏中的脂质堆积, 在一定程度上能减轻 NAFLD 的危害。



注: 与 NCD 组相比 * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 HFFD 组相比 # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图 1 NAR 降低高脂、高糖诱导的 NAFLD 小鼠血清和肝脏甘油三酯水平 ($n=6$)

Fig.1 NAR reduce the TG levels in serum and liver of NAFLD mice fed with HFFD ($n=6$)

2.3 NAR 缓解高脂、高糖诱导 NAFLD 小鼠肝脏组织病理学变化

普通维持饲料喂养的 NCD 组小鼠: 肝组织结构基本正常, 视野内肝细胞结构完整、轮廓清晰、胞核圆润、胞质丰富, 未见坏死、变性; 肝窦大小均匀, 未见扩张, 肝索排列整齐紧密。高脂、高糖饲料喂养的 HFFD 组小鼠: 肝组织结构重度异常, 轮廓不清晰, 部分肝细胞坏死, 视野内大面积肝细胞重度脂肪变性, 胞质内可见大小不一的圆形脂滴, 如红色箭头所示; NAR 灌胃的干预组小鼠: 肝组织结构中度异常, 视野内部分肝细胞脂肪变性, 胞质

内可见大小均匀的圆形脂滴, 如红色箭头所示; 肝细胞轮廓清晰, 未见坏死; 肝窦未见扩张, 肝索排列规则。以上结果表明, 柚皮素能缓解高脂、高糖饮食导致的肝脏组织病理损伤, 减轻脂质堆积。

2.4 NAR 缓解高脂、高糖诱导 NAFLD 小鼠肝脏损伤

肝酶天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 和丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 升高是肝损伤的标志之一, 预示着肝脏功能受损。如图 2 所示, 与预期一样, HFFD 极显著提高了小鼠血清中的 AST 和 ALT, 表明小鼠肝脏受到损伤。而 NAR 干预极显著降低了 AST

($P < 0.01$)水平,显著降低了 ALT($P < 0.05$)水平,说明 NAR 能在一定程度上缓解高脂、高糖饮食诱导的 NAFLD 小鼠肝脏损伤。

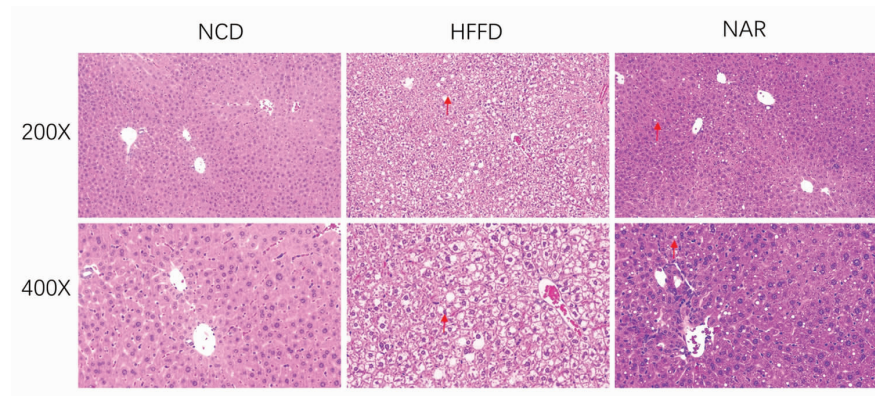
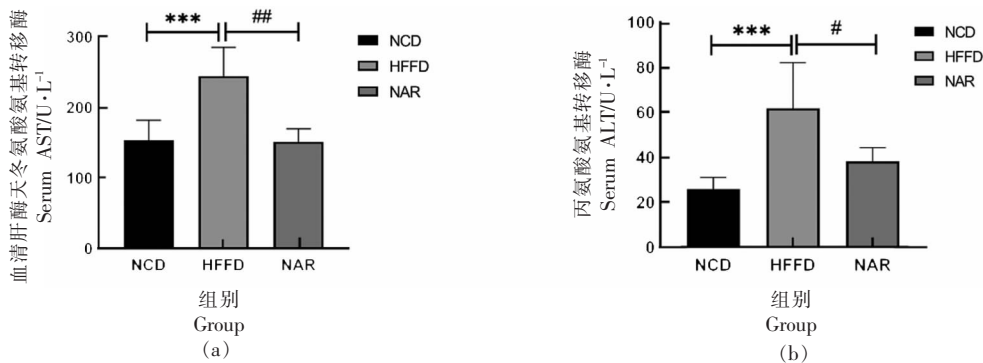


图 2 柚皮素缓解高脂、高糖诱导 NAFLD 小鼠肝脏组织病理学变化

Fig.2 Naringenin alleviate the changes of liver histopathology on NAFLD mice fed with HFFD



注:与 NCD 组相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与 HFFD 组相比 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。

图 3 柚皮素缓解高脂、高糖诱导 NAFLD 小鼠肝脏损伤 ($n=6$)

Fig.3 Naringenin alleviate the hepatic injury on NAFLD mice fed with HFFD ($n=6$)

2.5 NAR 缓解高脂、高糖诱导 NAFLD 小鼠肝脏炎症

TNF- α 和 IL-6 是 LPS 在肝脏与 TLR4 受体结合后刺激产生的促炎因子^[19],如图 4 所示,

NAFLD 小鼠肝脏中的促炎因子 TNF- α 、IL-6 显著升高。而灌胃 NAR 使 TNF- α 和 IL-6 水平极显著降低($P < 0.001$),恢复到正常水平,表明 NAR 可以减轻 NAFLD 小鼠中的炎症反应,减轻肝脏损伤。

表 2 柚皮素缓解高脂、高糖诱导 NAFLD 小鼠肝脏炎症 (ng/mg prot) ($n=6$)

Table 2 Naringenin alleviate the hepatic inflammation on NAFLD mice fed with HFFD (ng/mg prot) ($n=6$)

炎症因子	NCD	HFFD	NAR
TNF- α	6.61 \pm 0.48	10 \pm 0.59***	7.42 \pm 0.81###
IL-6	0.96 \pm 0.07	1.85 \pm 0.34***	1.01 \pm 0.08###

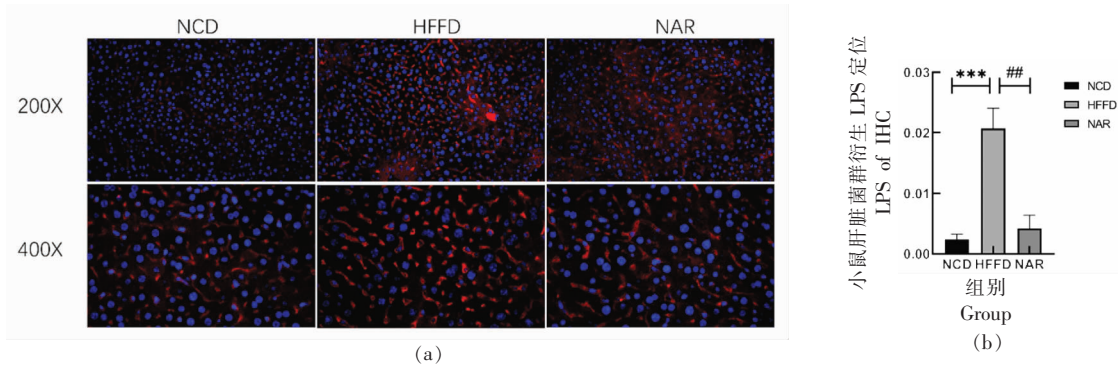
注:与 NCD 组相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与 HFFD 组相比 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。

2.6 NAR 减少肝脏菌群衍生 LPS 定位 菌群衍生的 LPS 在 NAFLD 的发展中起重要

作用。有研究发现肝脏肠源性 LPS 定位与肝损伤严重程度相关^[6,20],并且在 NAFLD 和非酒精脂肪

肝炎(NASH)患者中都发现了高水平的菌群衍生 LPS^[6]。LPS 在肝脏中会结合 TLR4 受体,激活 Kupffer 细胞和肝星状细胞(HSC),导致炎症反应,造成肝脏炎症损伤^[21]。如图 5 所示,免疫荧光分析

显示 HFFD 组肝脏具有显著的菌群衍生 LPS 定位,而灌胃 NAR 显著减少了小鼠肝脏中的菌群衍生 LPS。



注:与正常组相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与模型组相比 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。

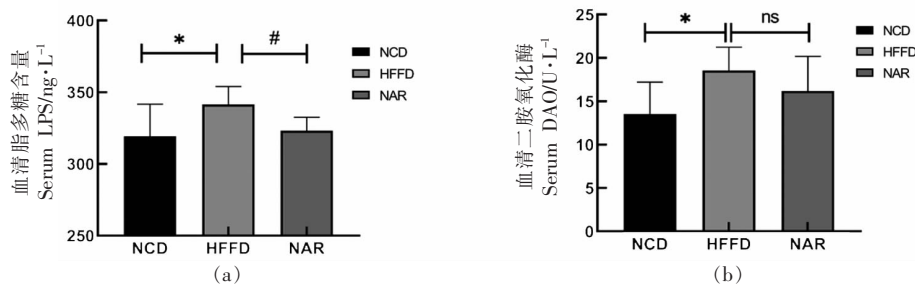
图 4 柚皮素减少高脂、高糖诱导 NAFLD 小鼠肝脏菌群衍生 LPS 定位 ($n=3$)

Fig.4 NAR suppress bacteria derived LPS location in the liver of NAFLD mice fed with HFFD ($n=3$)

2.7 柚皮素降低高脂、高糖诱导 NAFLD 小鼠肠道通透性

高脂饮食会导致肠道微生物紊乱,导致肠道通透性上升,同时,有报道称长期高糖饮食与内毒血症有关。肠道通透性降低会导致菌群衍生的 LPS 等物质进入门静脉循环,从而触发肝脏炎症,造成肝脏损伤。本试验检测了血清 LPS 及 DAO 水

平以确定肠道通透性的变化。如图 5 所示,HFFD 组相对 NCD 组血清 LPS 与 DAO 显著上升,提示该组肠道通透性上升。灌胃 NAR 显著降低了血清 LPS 的水平,降低了血清 DAO 水平,虽然数据未达到显著水平。表明 NAR 灌胃可以降低 NAFLD 小鼠的肠道通透性,有助于肝脏菌群衍生 LPS 的减少。



注:与 NCD 组相比 * $P < 0.05$;与 HFFD 组相比 # $P < 0.05$ 。

图 5 柚皮素降低高脂、高糖诱导 NAFLD 小鼠肠道通透性 ($n=6$)

Fig.5 NAR reduce intestinal permeability in NAFLD mice fed with HFFD ($n=6$)

3 讨论

柚皮素是广泛存在于柑橘类水果的类黄酮之一,具有良好的抗脂、抗炎作用。在本试验中,经过柚皮素灌胃后,小鼠体质量与肝质量显著降低,血

清与肝脏 TG 显著减少,AST、ALT 活力显著降低,组织病理损伤改善,肝脏炎症因子水平极显著降低,表明柚皮素 NAR 有效缓解了高脂、高糖诱导的小鼠非酒精性脂肪肝病,减轻了小鼠肝脏脂质

堆积与炎症,表明柚皮素对饮食(高脂、高糖)诱导的 NAFLD 有良好的干预效果。

同时,柚皮素干预降低了肠道通透性,减少了肝脏菌群衍生的 LPS。饮食通过调节肠道微生物群影响肠道通透性,如高脂和高糖饮食会导致肠道菌群紊乱,肠道通透性增加,促进内毒血症,增加进入门脉循环的脂多糖(LPS)的增加,这种肠肝轴效应是目前 NAFLD 的治疗靶点之一^[22],本试验确定了柚皮素可以通过这种肠肝轴效应减轻肝脏炎症损伤。LPS 是革兰氏阴性菌的产物,过度衍生的产 LPS 菌群也会导致进入门静脉循环的 LPS 增加。同时乳糜微粒生物合成的增强也会导致 LPS 易位^[23]。因此需要进一步试验确定柚皮素减少肝脏菌群衍生 LPS 的原因。

参 考 文 献

- [1] WANG R, MONIRUZZAMAN M, WONG K Y, et al. Gut microbiota shape the inflammatory response in mice with an epithelial defect[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1-18.
- [2] LIM G E H, TANG A, NG C H, et al. An observational data meta-analysis on the differences in prevalence and risk factors between MAFLD vs NAFLD [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2023, 21(3): 619-29.e7.
- [3] LIANG Y, CHEN H, LIU Y, et al. Association of MAFLD with diabetes, chronic kidney disease, and cardiovascular disease: A 4.6-year cohort study in China[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2022, 107(1): 88-97.
- [4] KESSOKU T, KOBAYASHI T, TANAKA K, et al. The role of leaky gut in nonalcoholic fatty liver disease: A novel therapeutic target [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22: 8161.
- [5] COMPARE D, COCCOLI P, ROCCO A, et al. Gut-liver axis: The impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease[J]. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2012, 22(6): 471-476.
- [6] CARPINO G, DEL BEN M, PASTORI D, et al. Increased liver localization of lipopolysaccharides in human and experimental NAFLD [J]. *Hepatology*, 2020, 72(2): 470-485.
- [7] CHIECHIO S, ZAMMATARO M, BARRESI M, et al. A Standardized extract prepared from red orange and lemon wastes blocks high-fat diet-induced hyperglycemia and hyperlipidemia in mice [J]. *Molecules*, 2021, 26(14): 4291.
- [8] 唐晓飞, 钟梦菊, 沈海娟. 柚皮素脂质体对非酒精性脂肪性肝病大鼠脂质代谢的影响及机制研究[J]. *实用肝脏病杂志*, 2020, 23(3): 328-331.
TANG X F, ZHONG M J, SHEN H J. Effect of naringenin Liposomes on lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease rats[J]. *Journal of Practical Hepatology*, 2020, 23(3): 328-331.
- [9] CHIECHIO S, ZAMMATARO M, BARRESI M, et al. A standardized extract prepared from red orange and lemon wastes blocks high-fat diet-induced hyperglycemia and hyperlipidemia in mice [J]. *Molecules*, 2021, 26(14): 4291.
- [10] YANG Y, WU Y, ZOU J, et al. Naringenin attenuates non-alcoholic fatty liver disease by enhancing energy expenditure and regulating autophagy via AMPK[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 1806-1821.
- [11] KOMETSI L, GOVENDER K, MOFO MATO E P, et al. By reducing oxidative stress, naringenin mitigates hyperglycaemia-induced upregulation of hepatic nuclear factor erythroid 2-related factor 2 protein[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2020, 72(10): 1394-1404.
- [12] TSUHAKO R, YOSHIDA H, SUGITA C, et al. Naringenin suppresses neutrophil infiltration into adipose tissue in high-fat diet-induced obese mice[J]. *J Nat Med*, 2020, 74(1): 229-237.
- [13] AZUMA T, SHIGESHIRO M, KODAMA M, et al. Supplemental naringenin prevents intestinal barrier defects and inflammation in colitic mice[J]. *J Nutr*, 2013, 143(6): 827-834.
- [14] ASGHARPOUR A, CAZANAVE S C, PACANA T, et al. A diet-induced animal model of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular cancer [J]. *J Hepatol*, 2016, 65(3): 579-588.
- [15] CHO Y E, KIM D K, SEO W, et al. Fructose promotes leaky gut, endotoxemia, and liver fibrosis through ethanol-inducible cytochrome P450-2E1-mediated oxidative and nitrate stress[J]. *Hepatology*, 2021, 73(6): 2180-2195.
- [16] ISHIMOTO T, LANASPA M A, RIVARD C J, et al. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase [J].

- Hepatology, 2013, 58(5): 1632-1643.
- [17] SPRUSS A, KANURI G, WAGNERBERGER S, et al. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice[J]. Hepatology, 2009, 50(4): 1094-1104.
- [18] VOLYNETS V, LOUIS S, PRETZ D, et al. Intestinal barrier function and the gut microbiome are differentially affected in mice fed a western-style diet or drinking water supplemented with fructose[J]. J Nutr, 2017, 147(5): 770-780.
- [19] CAO S G, CHEN R, WANG H, et al. Cryptotanshinone inhibits prostaglandin E2 production and COX-2 expression via suppression of TLR4/NF- κ B signaling pathway in LPS-stimulated Caco-2 cells[J]. Microbial Pathogenesis, 2018, 116: 313-317.
- [20] FEI N, BRUNEAU A, ZHANG X, et al. Endotoxin producers overgrowing in human gut microbiota as the causative agents for nonalcoholic fatty liver disease[J]. mBio, 2020, 11(1): e03263-19.
- [21] HENAO-MEJIA J, ELINAV E, JIN C, et al. Inflammation-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity[J]. Nature, 2012, 482(7384): 179-185.
- [22] KESSOKU T, KOBAYASHI T, TANAKA K, et al. The role of leaky gut in nonalcoholic fatty liver disease: A novel therapeutic target [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(15): 8161.
- [23] GHOSHAL S, WITTA J, ZHONG J, et al. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides[J]. J Lipid Res, 2009, 50(1): 90-97.

The Alleviate Effects of Naringenin on High-Fat and High-Fructose Diet Fed Non-alcoholic Fatty Liver Disease Mice

Ge Jingjing^{1,2}, Ruan Zheng^{1,2*}

¹College of Food Science, Nanchang University, Nanchang 330047

²State Key Laboratory of Food Science and Technology (Nanchang University), Nanchang 330047)

Abstract Objective: To investigate the protective effects and mechanism of naringenin (NAR) on high-fat, high-sugar induced mice with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Methods: Mice were fed with a high-fat and high-fructose diet to establish a NAFLD model, orally administration of naringenin was performed during the experiment. After 9 weeks, the body weight, epididymis fat weight and liver weight were observed, levels of the serum and liver triglyceride, serum ALT, AST were measured; Levels of hepatic inflammatory factors and serum lipopolysaccharides (LPS) was determined by ELISA, the pathological changes of liver tissues in mice were observed, and the localization of bacteria derived lipopolysaccharides in the liver flora was determined using anti-LPS obtained from *Escherichia coli*. Results: Naringenin significantly reduced the increased body mass ($P<0.001$) and liver weight of NAFLD mice ($P<0.01$) induced by HFFD, decrease the serum and hepatic TG level ($P<0.05$), the serum ALT ($P<0.05$) and AST levels ($P<0.01$), and improved the liver steatosis and lipid accumulation. Meanwhile, naringenin reduce the localization of bacteria derived LPS ($P<0.01$) in mice liver and intestinal permeability. Conclusion: This study initially reveals that naringenin may reduce the bacteria-derived LPS location in mice liver by reducing intestinal permeability, thereby reducing liver inflammation, and alleviating the high-fat and high-fructose induced non-alcoholic fatty liver diseases in mice.

Keywords non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD); naringenin; lipopolysaccharides (LPS); intestinal permeability