

# 代谢功能障碍相关脂肪性肝病动物模型研究进展

赵林昀, 张鑫, 席子萌, 张权, 马春丽\*, 包玉龙\*

(内蒙古医科大学, 呼和浩特 010110)

**摘要:** 代谢功能障碍相关脂肪性肝病(metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD)是一类与代谢功能障碍密切相关的肝脏疾病谱系,其发病机制复杂且仍未完全阐明。动物模型是探索MAFLD发生发展机制、评估干预策略与药物转化的基础工具。本文综述并比较了当前常用的MAFLD动物模型,包括饮食诱导模型、药物/化学诱导模型、基因工程模型及非人灵长类模型,重点讨论了各模型的配方细节、诱导时程、能再现的人类病理与代谢特征及局限性。文章还提出了选模建议以提高研究可重复性与转化价值,为MAFLD基础与转化研究提供实用参考。

**关键词:** 代谢功能障碍相关脂肪性肝病;动物模型;发病机制;模型选择

中图分类号: Q493; R575; R-332 文献标识码: A

## Research progress on animal models of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease

ZHAO Lin-Yun, ZHANG Xin, XI Zi-Meng, ZHANG Quan, MA Chun-Li\*, BAO Yu-Long\*

(Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

**Abstract:** Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD) represents a global health challenge with a complex and incompletely understood pathogenesis. Animal models serve as indispensable tools for elucidating the mechanisms underlying MAFLD development, evaluating potential therapeutic interventions, and facilitating drug translation. This review aims to systematically summarize and compare the currently available animal models of MAFLD, providing practical guidance for selecting appropriate models in basic and translational research. We categorize MAFLD animal models into four main types: diet-induced models, drug/chemical-induced models, genetically engineered models, and non-human primate (NHP) models. Each model type is discussed in detail, focusing on formulation specifics, induction timelines, reproducible human pathological and metabolic features, and inherent limitations. Diet-induced models, particularly high-fat diets (HFD), are highlighted for their ability to closely mimic human MAFLD pathology, including obesity, insulin resistance, and hepatic steatosis. Drug/chemical-induced models, such as the methionine-choline deficient (MCD) diet and carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) treatment, offer rapid induction of hepatic inflammation and fibrosis but often lack metabolic features observed in human MAFLD. Genetically engineered models provide insights into specific gene functions and pathways but may not fully recapitulate the polygenic and environmental interactions characteristic of human MAFLD. NHP models, due to their close physiological and metabolic resemblance to humans, offer unparalleled translational potential but are limited by high costs and ethical considerations. The selection of an appropriate MAFLD animal model should be guided by the specific research objectives, taking into account factors such as the desired disease stage (e.g., simple steatosis vs. fibrosis), metabolic features, induction timeline, and cost-effectiveness. For mechanistic studies focusing on metabolic pathways, HFD models or genetically engineered models may be preferred. For drug efficacy screening, models that rapidly induce hepatic inflammation and fibrosis, such as MCD combined with CCl<sub>4</sub>, may be more suitable. NHP models should be reserved for high-value

收稿日期: 2025-07-23; 修回日期: 2025-09-02

基金项目: 内蒙古自治区高等学校创新团队发展计划(NMGIRT2418); 内蒙古自治区高等学校“青年科技英才支持项目”(NJYT23052); 一流学科科研专项项目(YLXKZX-NYD-009); 内蒙古医科大学面上项目(YKD2022MS006); 内蒙古医科大学重点项目(YKD2022ZD008); 内蒙古医科大学笃学人才项目(ZY20243102); 内蒙古自然科学基金项目(2024MS08054, 2024LHMS08024); 内蒙古医科大学大学生创新创业训练计划项目(101322025138, 101322025102)

\*通信作者: E-mail: 472689713@qq.com(包玉龙); ma200614127@126.com(马春丽)

translational studies where close physiological resemblance to humans is critical. Standardization of reporting practices, including detailed descriptions of animal strains, diets, induction protocols, and outcome measures, is essential to enhance the reproducibility and comparability of research findings. Additionally, the use of multiple complementary models is encouraged to capture the heterogeneous nature of MAFLD and strengthen the validity of research conclusions. In conclusion, this review provides a comprehensive overview of the current landscape of MAFLD animal models, highlighting their strengths, limitations, and optimal applications. By adhering to the proposed recommendations, researchers can enhance the rigor, reproducibility, and translational value of their MAFLD studies, ultimately accelerating the development of effective therapeutic strategies for this global health burden.

**Key words:** metabolic dysfunction-associated fatty liver disease; animal models; pathogenesis; model selection

代谢功能障碍相关脂肪性肝病(metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD)已成为全球范围内最常见的慢性肝病之一,其谱系从单纯性脂肪肝延伸至炎症性损伤、纤维化乃至肝细胞癌<sup>[1]</sup>。与以往使用的“非酒精性脂肪性肝病”命名不同,MAFLD 更强调代谢功能异常在疾病发生发展中的核心地位——在肝脏影像或组织学证实脂肪沉积的基础上,需伴随超重/肥胖、2型糖尿病或其他代谢紊乱之一或多项<sup>[2]</sup>。该命名与诊断框架的更新不仅反映了临床表型的多样性,也对实验模型的构建与结果解读提出了更高要求。

从流行病学角度看,随着全球饮食结构和生活方式的改变,MAFLD 发病率呈现逐年上升趋势,同时并发心血管疾病、糖尿病和慢性肾病等多种代谢性并发症,给公共卫生与医疗系统带来沉重负担<sup>[3]</sup>。尽管大量流行病学与临床研究揭示了MAFLD 与代谢紊乱之间的相关性,但其具体的因果链条、关键驱动通路及个体差异机制仍未完全阐明,这在一定程度上制约了精准治疗策略和有效药物的开发。

在此背景下,动物模型成为连接基础研究与临床转化的桥梁。通过不同类型的动物模型,研究者可在受控条件下模拟特定致病因素(如高脂/高糖饮食、营养缺陷、特异基因变异或化学损伤),系统解析脂质代谢、炎症反应、免疫细胞互动与纤维化进展等关键环节,并在体内评估候选药物的疗效与毒性<sup>[4]</sup>。然而,现有模型各有侧重:一些饮食诱导模型可较好再现肥胖与胰岛素抵抗,另一些如蛋氨酸-胆碱缺乏模型(methionine and choline deficient, MCD)则能在短期内快速诱导严重的肝损伤与纤维化但缺乏人类常见的代谢背景;基因工程模型便于解析单基因作用,但常无法描述多基因与环境交互的复杂性;非人灵长类模型虽更接近人类生理,但成本高,伦理与规模限制明显。因此,模型的选择需根

据研究目的权衡时间成本、可重复性与临床相关性。

此外,在已有的研究中,模型之间可比较性差,对饲料具体成分、动物品系、性别、喂养时长与环境条件等关键信息披露不充分,严重影响结果复现与跨研究整合。随着 MAFLD 概念的更新及多组学、代谢组学与微生物组学技术的发展,亟需在模型设计上更加注重代谢背景的还原、病程分期的模拟以及评价指标的标准化。

基于上述背景,本文将系统回顾当前主流的MAFLD 动物模型类型与具体实现策略,重点讨论各模型在模拟肥胖、胰岛素抵抗、肝炎与纤维化方面的能力与局限,评估其在机制研究与药物开发中的适用性,并提出对模型选择、组合与报告的实用建议,以期MAFLD研究提供可操作的模型优化路径。

## 1 MAFLD主要发病机制

MAFLD是一类由代谢失衡驱动,表现为肝内脂质过度沉积并可进展为炎症、细胞损伤与纤维化的疾病谱<sup>[5]</sup>。其发病机制是多因素、多层次相互作用的网络化过程,核心环节可概括为“脂质沉积—细胞应激—免疫激活—纤维化”四步动力学演进,但各环节互为因果,可并行发生并受遗传与环境修饰。

### 1.1 脂质来源与肝内脂质过载-胰岛素抵抗(IR)

外周组织(尤其脂肪组织)对胰岛素敏感性下降可导致脂肪组织脂解增强,血浆游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)增加;肝脏摄取过多FFA并促进甘油三酯合成,导致脂滴在肝细胞内堆积<sup>[6]</sup>。首先是脂肪从头合成(*de novo* lipogenesis, DNL)上调:高碳水/糖类摄入、胰岛素异常与固醇调节元件结合蛋白1c、碳水化合物反应元件结合蛋白激活共同促进肝内DNL,进一步加重脂质蓄积。其次是脂蛋白外排受限:极低密度脂蛋白合成/分泌受限或脂质过载超过外排能力,导致肝内脂质难以清除。此外,遗传/表观遗传因素:PNPLA3 I148M、TM6SF2 E167K、MBOAT7等基因

变异影响脂滴代谢、甘油三酯动员和脂质外排,增加个体易感性;表观遗传修饰(DNA甲基化、miRNA)可在环境暴露后调节代谢基因表达<sup>[7]</sup>。

## 1.2 脂毒性与细胞应激反应

当FFA、鞘脂类及胆固醇在细胞内异常累积时,可通过中性脂质(包括FFA、氧化型胆固醇等)介导线粒体与内质网功能失常。在线粒体功能障碍方面,脂质异常介导的损伤会导致电子传递链功能受损,进而引发活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成增多、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)合成减少,同时脂肪酸氧化过程受到抑制;而ROS的过量产生又会进一步加重线粒体损伤,形成恶性正反馈循环<sup>[8]</sup>。在内质网应激与未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)层面,长期的脂质负荷会持续激活UPR通路中的蛋白激酶R样内质网激酶、肌醇需求酶1及活化转录因子6,促使炎症相关基因表达上调,并诱导促凋亡信号分子表达。此外,上述过程伴随的氧化应激会驱动脂质过氧化反应,产生丙二醛、4-羟基壬烯醛等过氧化产物,对细胞内蛋白质、生物膜结构及DNA造成广泛损伤,进而加剧炎症反应,推动细胞走向坏死或凋亡<sup>[9]</sup>。

## 1.3 免疫激活与炎症放大

库普弗细胞及浸润单核/巨噬细胞通过Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR4)等感知脂毒性和细菌源性,释放TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6等炎症因子,诱导局部炎症。(1)NLRP3炎症小体:线粒体ROS、K<sup>+</sup>外流、细胞内ATP/胆固醇晶体等可激活NLRP3, caspase-1切割pro-IL-1 $\beta$ /pro-IL-18释放成熟细胞因子,推动炎症和免疫细胞募集。(2)适应性免疫的参与:T细胞(Th1/Th17)和B细胞参与慢性炎症,影响巨噬细胞表型和纤维化进程<sup>[10]</sup>。(3)炎症的双重性:短期炎症反应有助于清除损伤和再生,但持续性炎症则导致组织破坏与纤维化。

## 1.4 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)活化与纤维化

HSCs可在损伤刺激下从静止的脂质含量高的细胞转变为肌成纤维样细胞,产生I/III型胶原,最终导致肝硬化。促纤维化轴包括TGF- $\beta$ /Smad、Wnt/ $\beta$ -catenin、PDGF-R信号等,同时炎症因子、ROS和胆汁酸异常共同促进HSCs活化。

## 1.5 肠肝轴与微生物组

肠道菌群失调可改变短链脂肪酸、胆汁酸代谢

与产物(如脂多糖)输出,导致肠道通透性增加,内毒素进入门静脉循环,直接刺激肝脏免疫与代谢通路<sup>[11]</sup>。胆汁酸信号受微生物调控,影响肝脂代谢、胆固醇稳态与炎症反应。

## 1.6 代谢综合征与全身因素的协同

肥胖、胰岛素抵抗、2型糖尿病、高血压和血脂异常组成的代谢综合征协同放大MAFLD的发生率与严重程度<sup>[12]</sup>。脂肪组织中的慢性低度炎症(浸润巨噬细胞、促炎细胞因子释放)是肝脏炎症信号的重要来源。高血糖与高级糖基化终末产物-受体轴可增强氧化应激和促纤维化信号。

## 1.7 环境与生活方式修饰因子

环境污染物(如PM<sub>2.5</sub>、多环芳烃、内分泌干扰物)可通过芳烃等受体改变代谢与解毒酶表达,诱导氧化应激并干扰胆汁酸代谢<sup>[13]</sup>。高危饮食模式(高糖、高脂、加工食品)和缺乏运动也是重要的危险因素。

## 2 MAFLD动物模型

### 2.1 饮食诱导动物模型

#### 2.1.1 高脂饮食

高脂饮食(high-fat diets, HFD)是诱导MAFLD动物模型的经典方法,饮食中的高含量脂肪是导致实验动物肝脂肪变性的主要原因。脂肪的类型(如饱和脂肪与不饱和脂肪的比例)、含量以及饮食的总体成分,包括胆固醇、胆酸盐等添加物,均与MAFLD的发生和发展紧密关联。利用高脂肪饮食喂养小鼠,可观察到脂肪沉积现象及其诱发的代谢综合征,这为探究MAFLD的病理机制及开发治疗策略奠定了坚实的实验基础。研究发现,HFD小鼠肝脏中脂肪含量显著增加,肝细胞内脂滴积聚,与人类MAFLD病理特征高度相似<sup>[14]</sup>。此外,HFD还会导致小鼠出现胰岛素抵抗、脂肪代谢紊乱及肝脏炎症等一系列代谢异常,这些变化与人类MAFLD进展密切相关<sup>[15]</sup>。

在MAFLD动物模型构建方案中,HFD因其可调控性及代谢表型可重复性成为主流诱导方案。典型HFD配方以能量百分比计,包含中脂(45 kcal%脂肪)与高脂(60 kcal%脂肪)两种类型,其中脂肪来源显著影响病理进程:饱和脂肪酸(如棕榈油、牛油)通过激活TLR4/MyD88通路及诱导线粒体ROS爆发,较不饱和脂肪酸(植物油)更易引发肝脏炎症(IL-6水平升高2.3倍)与胰岛素抵抗<sup>[16]</sup>。为加速模拟人

类西方饮食相关的MAFLD到非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)谱系进展,研究者常采用高脂高糖高胆固醇复合配方,其典型组成为:脂肪供能40%~45%(多采用猪油与大豆油混合),添加蔗糖/果糖(饲料中占比20%~30%或饮水添加10%)、胆固醇(0.2%~2% w/w)及胆酸盐(0.5% cholic acid)<sup>[17]</sup>。此类配方通过多通路协同作用——胆固醇促进脂质过氧化产物4-羟壬二酸酯(4-hydroxynonenal, 4-HNE)生成,胆酸盐激活FXR/SHP信号抑制胆汁酸解毒,果糖诱导的酮己糖激酶(ketohexokinase, KHK)过度活化导致肝细胞ATP耗竭——显著缩短NASH诱导周期(较单纯HFD缩短40%~60%)<sup>[18]</sup>。

以C57BL/6小鼠为标准模型,HFD诱导的MAFLD进展呈现明确时相特征:4~8周时,可见肝细胞内大泡性脂滴沉积(油红O染色阳性面积达35%~50%),伴体重增加(较普通饮食组高25%~40%);8~12周时,出现稳定脂肪变性(NAS评分 $\geq$ 3分)并伴随空腹血糖升高( $\geq$ 6.1 mmol/L)及甘油三酯蓄积(肝组织TG含量 $>$ 50 nmol/mg protein);12~16周时,部分模型(尤其含胆固醇配方)可检测到CD68<sup>+</sup>巨噬细胞浸润(免疫组化阳性细胞数 $>$ 50个/HPF)及肝细胞气球样变(H&E染色显示胞质空泡化);喂养 $\geq$ 16周时,敏感品系(如DBA/2J)或添加胆酸盐的配方可诱导胶原沉积(Sirius Red染色面积 $>$ 8%)及 $\alpha$ -SMA表达上调(qPCR显示相对表达量 $>$ 3倍),提示早期纤维化形成;长期喂养( $>$ 24周)时,则进展为桥接纤维化(Ishak评分 $\geq$ 3分)伴肝功能异常(ALT $>$ 200 U/L)<sup>[19]</sup>。

该模型体系的核心优势在于其病理表型与人类MAFLD的高度相似性(组织学相似度达82%~89%)及代谢参数的可量化调控,这使其成为研究胰岛素抵抗-脂毒性-炎症轴交互作用的理想平台。然而,单纯HFD诱导显著NASH/纤维化通常需延长喂养周期( $>$ 6个月)或联合使用四氯化碳等化学促纤维化剂,这限制了其在高通量药物筛选中的应用<sup>[20]</sup>。近年开发的复合模型(如高脂高糖高胆固醇+四氯化碳腹腔注射)通过整合代谢打击与直接肝损伤,将NASH纤维化诱导时间缩短至8~12周,同时保持代谢综合征表型(肥胖率100%、空腹血糖受损发生率75%),为抗纤维化药物研发提供了更高效的实验工具<sup>[21]</sup>。综上,HFD及其改良模型通过精准调控营养组分与干预时程,构建了从单纯脂肪变性到终末期肝病的完整病理谱系,

为MAFLD发病机制解析及治疗靶点验证提供了不可替代的研究范式。

### 2.1.2 蛋氨酸和胆碱缺乏饮食

蛋氨酸和胆碱缺乏饮食(methionine and choline deficiency diet, MCD)也是构建MAFLD动物模型时常用的一种营养干预方式,其核心在于饲料成分中保留高比例蔗糖与脂肪的同时,完全剔除蛋氨酸和胆碱这两种在肝脏甘油磷脂和脂蛋白合成中起关键作用的必需营养素。在经典描述中,MCD饲料常伴有较高比例蔗糖(可占总热量的30%~40%)与中等脂肪(约10% kcal),但各供应商配方存在差异,使用时需列明具体成分或商品编号<sup>[22]</sup>。该模型通常旨在模拟高糖高脂饮食对人类代谢健康的影响,但剔除蛋氨酸和胆碱可加速肝脏脂质代谢紊乱的发生,从而快速诱导小鼠出现肝脏脂肪变性、炎症及纤维化等病理特征<sup>[23]</sup>。具体而言,蛋氨酸缺乏时肝细胞膜流动性减弱,导致肝细胞内胆汁淤积及脂肪积累,从而可以模拟人类MAFLD的病理状态。MCD进食2周后即可引起天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平显著升高,2~8周可达到纤维化阶段并伴有小叶炎症和球囊,这些变化与人类MAFLD的临床表现高度相似<sup>[24]</sup>。在MCD小鼠模型中,肝脏脂肪沉积主要由肝细胞内脂肪酸合成增加和氧化减少所致,相关调控机制为MAFLD研究提供了新视角;此外,MCD饮食还能引发肝脏炎症反应,导致肝细胞损伤和死亡,这与MAFLD进展密切相关。MCD模型的优势在于能够有效模拟从单纯脂肪变性到NASH的进展,并在较短时间内诱导出明显的肝脏病理变化,可快速评估不同干预措施对MAFLD的影响;通过对MCD小鼠进行药物或营养干预,观察肝脏炎症和纤维化是否明显改善,进而探索新的治疗策略和方向。然而,该模型也存在局限性,其缺乏人类发生MAFLD的主要危险因素,如胰岛素抵抗和超重。研究表明,胰岛素抵抗是MAFLD患者中最常见的代谢异常之一,与肝脏脂肪变性、炎症及纤维化发展密切相关,但MCD模型小鼠常展现出低血清胰岛素水平及空腹血糖、瘦素、甘油三酯水平下降等表型,且人类MAFLD患者多伴有肥胖或超重,而MCD模型小鼠却体重减轻甚至呈现恶病质状态,这种代谢特征的缺失使研究结果可能难以全面反映人类疾病真实状况,制约了其在药物研发及机制研究领域的广泛应用<sup>[25]</sup>。因此,使用

MCD诱导动物模型时应同时监测体重、血糖与胰岛素等代谢指标,并在报告中明确指出其代谢学局限,避免将MCD的纤维化特征直接解读为与典型肥胖相关的NASH表型,理想情况下应与其他代谢相关模型(如高脂饮食HFD、西方饮食)联合验证。

### 2.1.3 DIAMOND 小鼠模型

DIAMOND (diet-induced animal model of non-alcoholic fatty liver disease)小鼠模型作为一类专为精准模拟人类MAFLD/NASH全程病理演变而构建的饮食诱导型动物模型,在代谢性疾病研究领域具有重要价值。

该模型基于C57BL/6J与129S1/SvImJ混合/近交遗传背景,通过长期饲喂高脂/高糖的西式“Western”类饮食(常伴随含果糖/葡萄糖的甜饮水,部分方案额外添加膳食胆固醇)诱导疾病进展,其核心优势在于能够完整复现从单纯性脂肪肝(数周至8~12周出现明显肝细胞脂滴堆积)→NASH(12~24周表现为肝细胞气球样变、炎性细胞浸润及轻中度肝细胞损伤)→纤维化(24周以上形成周细胞间或桥接性纤维化病灶)→肝细胞癌(长期随访接近或超过1年可观察到自发性肿瘤发生)的连续病理过程,同时伴随体重增加、脂肪堆积、胰岛素抵抗、血脂异常等代谢综合征特征,以及氧化应激、炎性通路激活、脂质代谢/炎症/纤维化相关基因表达重编程、线粒体功能受损等分子机制上的改变<sup>[26]</sup>。该模型因病程演进与人类MAFLD/NASH高度相似,被广泛用于疾病自然史研究、长期病理机制探索及药物疗效评价,尤其适合开展多组学时间序列分析。通过预设早期脂肪期、中期炎症期、纤维化起始与进展期等关键时间点,整合转录组、蛋白质组、代谢组与组织学数据,揭示疾病进展的时序性分子事件网络。然而,其应用也存在显著局限性:完整观察纤维化甚至肝细胞癌通常需要数月至一年,导致实验周期延长、成本增加;不同研究采用的脂肪含量、糖组分及胆固醇配方差异影响表型一致性,标准化困难;模型对遗传背景高度依赖,不能简单移植至其他品系;代谢状态、环境条件及饲养管理等因素易引发群体内表型变异,需通过设置匹配的低脂/正常饮食对照、采用盲法组织学评分、预留足够样本量及随访期等措施保障结果可靠性。此外,对于短期纤维化诱导或快速药物筛选需求,MCD或化学联合模型可能更具优势,而DIAMOND模型更适用于长期进展研究与转

化医学验证。在实验设计层面,建议结合代谢测定(葡萄糖/胰岛素耐受试验)、血清学指标(ALT/AST/脂质谱)、组织学评分(NAS、纤维化分级)、免疫组化及分子组学分析等多维度表征手段,并在获得候选靶分子或治疗靶点后,进一步通过人源样本或独立模型验证以提高临床转化价值。综上,DIAMOND小鼠模型以其独特的病程完整性及转化相关性,成为研究MAFLD/NASH自然史与干预策略的核心工具,但其应用需充分考虑周期、成本、标准化及遗传背景敏感性等因素,并与其他模型及人源数据形成互补验证体系。

## 2.2 药物诱导动物模型

在MAFLD研究体系中,药物诱导的动物模型因其独特的病理诱导机制和实验可控性,已成为探索疾病发生发展机制及新型治疗策略的重要工具。该类模型通过系统性给予特定药物(如链脲佐菌素、四氯化碳、硫代乙酰胺等)或化学物质,精准模拟肝脏脂肪变性、胰岛素抵抗、氧化应激及纤维化等核心病理特征,尤其适用于研究胰岛素抵抗这一MAFLD进展的关键驱动因素。已有研究表明,维生素D可通过调节炎症反应和脂质代谢途径显著改善MAFLD模型小鼠的胰岛素敏感性<sup>[27]</sup>;同时,药物可通过抑制线粒体 $\beta$ -氧化阻断脂肪酸氧化通路,导致肝细胞内脂肪酸异常蓄积,进而诱发线粒体ROS爆发、炎症反应及氧化应激级联反应,最终通过肝细胞坏死触发固有免疫系统过度活化,形成慢性炎症微环境<sup>[28]</sup>。此类模型在药物筛选领域亦展现出显著优势:基于天然产物的干预研究证实,特定植物成分可有效逆转肝脏脂肪沉积并改善胰岛素抵抗状态<sup>[29]</sup>,为临床转化提供了可靠的实验依据;通过整合体外细胞模型与体内动物实验,研究者能够系统评估候选药物的疗效靶点及分子机制,构建从基础研究到临床前验证的完整证据链。

从方法学角度,药物诱导模型具有高度灵活性和可操作性:低剂量链脲佐菌素联合高脂饮食可通过选择性破坏胰岛 $\beta$ 细胞功能,在幼龄小鼠中构建糖尿病合并MAFLD/NASH的双重病理模型,为研究糖代谢紊乱对肝脏病变的影响及降糖药物的肝保护作用提供理想平台;CCl<sub>4</sub>或硫代乙酰胺等化学诱导剂则通过诱导肝细胞坏死启动纤维化进程,与HFD饮食联用可显著缩短纤维化模型构建周期,适用于抗纤维化药物的快速筛选与机制解析<sup>[30]</sup>;此

外,抗生素或胆汁酸代谢干预剂等特殊毒物已被用于探究肠-肝轴、胆汁酸信号通路在MAFLD发病中的调控作用,拓展了模型的应用维度<sup>[31]</sup>。

然而,该类模型的局限性在于化学损伤机制与人类自然病程存在本质差异,单独应用时外推至临床的转化价值受限;药物作用的多效性(包括药代动力学特性、个体遗传背景差异、药物-药物相互作用等)可能显著影响模型的可重复性和表型稳定性,需通过严格实验设计(如设置剂量梯度、多时间点采样、盲法评估等)加以控制<sup>[32]</sup>。未来研究趋势将聚焦于多模型整合策略——通过联合基因编辑小鼠、饮食诱导模型及药物干预手段,构建覆盖代谢紊乱、炎症激活、纤维化进展等全病程的复合模型体系,以更精准地模拟MAFLD的异质性病理特征,为机制解析和精准治疗提供多维实验平台。

### 2.3 基因工程模型

基因敲除模型作为MAFLD研究的核心工具,通过定向调控特定基因表达,为解析疾病发病机制及探索治疗靶点提供了关键实验证据。近年来,基于基因编辑技术构建的多种敲除小鼠模型显著推进了对MAFLD病理生理学的认知进程:CGI-58 (comparative gene identification-58)基因敲除小鼠在HFD饮食诱导下迅速进展为NASH伴肝纤维化,其肝脏表现为炎症细胞浸润、促炎基因表达上调及大量脂滴沉积,同时促纤维化基因表达显著增强,揭示了该基因在脂质代谢调控中的核心作用<sup>[33]</sup>;程序性细胞死亡因子4 (programmed cell death 4, PDCD4)基因敲除则通过解除对PPAR $\alpha$ 及其下游酰基辅酶A氧化酶的负调控,促进脂肪酸氧化并减少HFD诱导的脂质蓄积,提示PDCD4可能成为MAFLD治疗的潜在干预靶点<sup>[34]</sup>;肝细胞特异性核因子NF-E2相关因子2 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)缺失小鼠模型显示,Nrf2通过调节PPAR $\gamma$ 表达影响脂质代谢关键基因,其缺失可减轻HFD诱导的肝脏脂肪变性,表明Nrf2可抑制MAFLD发病<sup>[35]</sup>;白细胞介素-22受体信号研究进一步发现,该通路在雌性小鼠中表现出显著的MAFLD相关肝损伤保护效应,而在雄性中无显著影响,提示性别差异可能通过IL-22信号通路参与疾病进程<sup>[36]</sup>。此外,Krüppel样转录因子(Krüppel-like factor, KLF)和血管内皮生长因子B (vascular endothelial growth factor-B, VEGFB)基因敲除小鼠分别表现为HFD诱导条件下MAFLD易

感性增加和疾病进展加速,进一步证实了这些基因在脂质代谢及胰岛素抵抗调控中的重要性<sup>[37,38]</sup>。

当前MAFLD基因敲除模型体系已形成多维度研究框架,经典模型如ob/ob (瘦素缺陷)和db/db (瘦素受体缺陷)小鼠呈现高度肥胖与胰岛素抵抗表型,可快速诱导肝脂肪沉积,但NASH和纤维化表型通常需联合HFD或CCl<sub>4</sub>等额外刺激,适用于研究肥胖驱动的代谢紊乱机制;人类风险等位基因模型(如PNPLA3 I148M敲入小鼠)通过导入疾病相关变异,为解析遗传易感性提供了直接证据;功能性敲除/敲入模型(包括CGI-58、Nrf2、PPAR系列、VEGFB、PDCD4等)则系统揭示了脂质代谢、氧化应激、炎症及纤维化等关键病理通路;转基因或基因修饰模型常与HFD、西方饮食或化学损伤联用,以加速NASH/纤维化表型发展,更贴近人类疾病自然病程。值得注意的是,不同小鼠品系对脂肪饮食的敏感性存在显著差异(如C57BL/6J品系易发生肥胖和胰岛素抵抗,而其他品系可能表现出更强抗性),且性别因素亦影响病理表型(雄性通常对HFD更敏感,但特定基因背景下雌性可呈现独特病理变化),这强调了自然易感性在MAFLD研究中的重要性。

基因敲除模型的核心优势在于其能够明确揭示特定基因与疾病表型间的因果关系,为分子机制解析和治疗靶点验证提供直接证据;自然易感模型则通过模拟遗传背景差异,强化了研究结果的生物学合理性。然而,单基因敲除模型难以完全复现人类MAFLD多基因与环境因素交互作用的复杂性,且部分基因敲除/敲入效应可能在小鼠中产生非生理性表型或与人类病理存在差异,因此需结合饮食诱导、化学损伤模型及多基因编辑策略进行综合验证。未来研究应进一步整合基因型-表型关联分析、类器官模型及临床队列数据,以构建更精准的MAFLD疾病模型体系,为机制解析和精准治疗提供多维实验支持。

### 3 非人灵长类模型

非人灵长类(non-human primates, NHP)模型因其与人类在解剖结构、生理功能、免疫系统及代谢特征上的高度同源性(遗传相似度达75%~98.5%),已成为疾病研究与药物开发领域极具转化价值的实验体系<sup>[39]</sup>。在生理与代谢层面,NHP的肝脏代谢通路、脂蛋白谱及炎症因子表达模式与人类疾病进程

高度一致,例如在高脂饮食诱导条件下可呈现脂肪肝变性、炎症细胞浸润及促炎基因上调,长期干预后促纤维化基因(如TGF- $\beta$ 等)表达显著增加,胶原沉积模式与人类NASH纤维化阶段吻合;在免疫响应方面,NHP保留完整的人类核心免疫特征(如HLA超型表位呈递、 $\gamma\delta$ T细胞亚群功能异质性),可精准模拟多基因调控网络及细胞表面标志物动态变化,尤其是在自身免疫疾病模型中表现突出。其临床前评估的可靠性亦显著优于啮齿类模型:NHP的细胞色素P450酶系统、药物转运体及靶基因表达与人类高度相似,药代动力学参数(如半衰期、生物利用度)与临床结果相关性更强,在免疫刺激性抗体(如CD28超激动剂)安全性测试中可真实反映细胞因子释放综合征发病机制,而啮齿类因缺乏人特异性靶点无法实现;此外,NHP模型能完整复现人类肥胖-胰岛素抵抗-NASH的连续病理过程及脑卒中后认知功能障碍、运动功能缺失等神经系统疾病特征,为揭示脂质过载、氧化应激、炎症通路交互作用及神经血管损伤机制提供了不可替代的研究平台<sup>[40,41]</sup>。

然而,NHP模型的应用仍面临多重挑战:其一,高成本与长周期限制了其大规模应用。单只NHP的饲养、实验及伦理审查费用是啮齿类模型的10~50倍,诱导NASH/纤维化需12~24个月HFD干预,远长于啮齿类模型(8~16周),且个体差异显著(纤维化进展速率波动达30%~50%)<sup>[42]</sup>;其二,伦理与监管约束日趋严格,NHP研究需严格遵循“替代、减少、优化”原则,实验设计需通过多层次伦理审查,部分国家已禁止非必要NHP实验,同时操作需在ABSL-2/3级实验

室进行,对人员培训、设施配置及废弃物处理提出更高标准;其三,模型标准化难题亟待解决,不同品系/个体对HFD的敏感性差异显著(如食蟹猴成模率60%~85%),部分动物仅表现为单纯性脂肪肝而缺乏典型炎症-纤维化级联反应,需通过遗传修饰(如CRISPR/Cas9敲除PPAR $\alpha$ )、体细胞核移植技术构建同源模型,或联合化学损伤(如CCl<sub>4</sub>)、基因编辑(如过表达PNPLA3 I148M)加速病理进程<sup>[43]</sup>。综上,NHP模型在疾病机制解析与转化医学中具有不可替代性,其应用需通过技术创新与策略优化平衡科学价值与伦理约束,以推动精准医疗的突破性进展。

#### 4 动物模型的比较与选择

在MAFLD相关研究中,动物模型的选择需基于科学目标与实验条件进行系统性考量,以兼顾机制解析的深度与临床转化的可靠性(表1)。首先,研究目标的明确性是模型选择的核心依据:若聚焦于代谢组学机制探索或减重/胰岛素敏感性干预策略评估,HFD饮食模型及基因型模型(如ob/ob、db/db小鼠)因能稳定诱导肥胖、胰岛素抵抗及单纯性脂肪肝表型而具有优先性;若需揭示炎症与纤维化动态进展机制或开展快速药效筛选,MCD饮食模型或化学损伤(如CCl<sub>4</sub>)联合饮食诱导的加速纤维化模型更具优势;而对于高转化性的药效验证与毒性评估,NHP模型或猪模型因与人类在肝脏代谢、免疫响应及药物处置方面的高度同源性,可提供更贴近临床的结果。其次,时间与成本约束需纳入决策框架:长期进展模型(如DIAMOND饮食诱导的NASH模型)虽能完整复现疾病自然史,但需数月至一年的干预周期,

表1 MAFLD相关模型信息表

Table 1 Information on MAFLD-related models

模型类型	优势	局限性	未来趋势
高脂饮食模型	可调控性强,代谢表型重复性好,与人类MAFLD病理特征高度相似	单纯HFD诱导显著NASH/纤维化需较长时间	开发更高效的复合模型
蛋氨酸和胆碱缺乏饮食模型	快速诱导肝脏病理变化,便于评估不同干预措施	缺乏胰岛素抵抗和超重等人类MAFLD主要危险因素	联合其他代谢相关模型进行验证
DIAMOND小鼠模型	完整复现人类MAFLD/NASH病理演变过程	实验周期长,成本高,标准化困难	结合多维度表征手段,提高临床转化价值
药物诱导模型	灵活可操作,适用于药物筛选	化学损伤机制与人类自然病程差异大	采用多模型整合策略,提高模型的临床转化价值
基因工程模型	明确特定基因与疾病表型因果关系	难以完全复现人类MAFLD的多基因复杂性	整合基因型-表型关联分析,构建精准模型体系
非人灵长类动物模型	同源性高,可模拟人类疾病进程	成本高,周期长,伦理监管严格	技术创新与策略优化,平衡科学价值与伦理约束

伴随较高的动物管理成本与伦理审查复杂度;短期机制研究则可选择MCD模型或化学联合饮食模型,以在8~16周内实现显著病理表型,从而优化资源分配。实验报告的标准化与透明度是保障研究可重复性的关键环节,需在报告中详尽披露动物品系(如C57BL/6J小鼠)、供应商、性别与年龄(如8周龄雄性)、饲料配方(如脂肪供能比45%或质量百分比21%)、添加物(胆固醇0.2%、胆酸0.1%、果糖10%)及喂养时程(如16周HFD诱导),同时明确监测体重、葡萄糖耐量、血脂谱(TG、TC)及肝功能指标(ALT、AST)的频率与方法,以消除变量差异的影响,使数据更具可比性和一致性。鉴于单一模型难以全面覆盖MAFLD的异质性病理特征(如代谢紊乱、炎症激活与纤维化沉积的时空差异),建议采用多模型交叉验证策略,例如在关键发现中联合HFD模型(代谢主导)与MCD模型(炎症-纤维化主导),或基因模型(如PPAR $\alpha$ 敲除小鼠)与饮食模型,以增强结论的稳健性。评价体系的多元化是深化表型解析的必要手段,除常规生化指标外,需整合组织学评分系统(如NAFLD活动度评分NAS、Steatosis-Activity-Fibrosis评分SAF)、纤维化定量技术(Sirius Red染色结合胶原含量测定)、免疫组化/分子标志物检测(如TNF- $\alpha$ 、IL-6、TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA表达)及代谢组学/转录组学分析,从而构建从分子到器官层面的多维表型图谱。此外,性别与年龄作为MAFLD发病的重要修饰因素,需在实验设计中予以系统性控制:雄性动物通常表现出更显著的代谢紊乱与肝损伤,而雌性可能因雌激素保护作用呈现延迟进展;年龄相关因素(如老年动物脂质沉积增加、纤维化修复能力下降)亦需通过分组设计或亚组分析明确其影响,或在结果讨论中充分报告潜在偏差。综上所述,MAFLD动物模型的选择与优化需以研究问题为导向,通过目标导向的模型匹配、资源约束的动态平衡、多维度验证体系的构建及标准化报告流程的实施,最终实现从基础机制到临床转化的高效衔接,为疾病防治策略的开发提供科学严谨的动物实验依据。

## 5 结论

MAFLD作为一种全球日益严重的代谢性疾病,其发病机制的复杂性和多样性使得研究人员在探索有效的治疗方案时面临诸多挑战。近年来的研究揭示,MAFLD不仅涉及脂肪沉积,还与炎症、氧化应

激、细胞凋亡等多种病理机制紧密相关<sup>[44,45]</sup>。这一认识的转变促使我们应该从不同的生物学角度出发深入探索MAFLD的发病机制,这也进一步推动了动物模型的发展。本文通过对各类动物模型研究进展进行系统综述,揭示了这些模型在MAFLD发病机制研究中的重要作用,同时也指出了各个模型的优势和局限性。

选择适宜的动物模型对深入研究MAFLD至关重要。诸如小鼠、大鼠、猪及灵长类动物等模型,均在某种程度上模拟了人类MAFLD的特征。但每种模型的生理特性和代谢特征不同,导致它们在模拟MAFLD发病机制上存在一定的局限性。转基因小鼠模型能精准揭示特定基因在MAFLD中的作用,为治疗提供新靶点,但因其环境和遗传背景独特,可能无法全面反映人类病理情况。大鼠模型在肝脏生理结构和代谢反应方面与人类更为相似,但在特定研究领域中的应用存在局限。因此,在选择合适的动物模型上,需要权衡模型的生物学相关性与实验的可操作性,以便获得更具临床意义的研究成果。

同时,还需要注意不同动物模型之间的研究成果可能存在的差异,这可能导致对MAFLD的理解出现分歧。特别是在研究某些潜在治疗靶点时,模型选择对结果解读具有重要影响。未来的研究可以着眼于多模态动物模型的建立,结合不同动物模型的优缺点,相互印证彼此的研究结果,以期在最大程度上还原人类MAFLD的复杂性。此外,推动跨学科的研究合作,结合生物信息学、系统生物学等新兴技术,将有助于全面解析MAFLD的发病机制,开发出更为有效的治疗策略。选择合适的动物模型是研究MAFLD的重要基础,而各类研究成果的整合与比较则是推动该领域发展的关键。通过不断探索新的研究方法和思路,将有望在MAFLD的防治上取得更大的突破,为患者带来福音。

## 参考文献

- [1] Subramanian P, Hampe J, Tacke F, et al. Fibrogenic pathways in metabolic dysfunction associated fatty liver disease (MAFLD). *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 6996.
- [2] Chang M, Shao Z, Wei W, et al. Sex-specific prevalence and risk factors of metabolic-associated fatty liver disease among 75,570 individuals in eastern China. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1241169.

- [3] Barrera F, Uribe J, Olvares N, et al. The Janus of a disease: diabetes and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Ann Hepatol*, 2024, 29: 101501.
- [4] Henkel J, Coleman CD, Schraplau A, et al. Induction of steatohepatitis (NASH) with insulin resistance in wildtype B6 mice by a western-type diet containing soybean oil and cholesterol. *Mol Med*, 2017, 23: 70–82.
- [5] Sotoudeheian M. Galectin-3 and severity of liver fibrosis in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Protein Pept Lett*, 2024, 31: 290–304.
- [6] Gong L, Zou Z, Huang L, et al. Photobiomodulation therapy decreases free fatty acid generation and release in adipocytes to ameliorate insulin resistance in type 2 diabetes. *Cell Signal*, 2020, 67: 109491.
- [7] Papakonstantinou E, Dragoumani K, Chrousos GP, et al. Exosomal epigenetics. *EMBnet J*, 2024, 29: e1049.
- [8] Waldbaum S, Patel M. Mitochondria, oxidative stress, and temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*, 2010, 88: 23–45.
- [9] Ma Y, Zhang L, Rong S, et al. Relation between gastric cancer and protein oxidation, DNA damage, and lipid peroxidation. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013: 543760.
- [10] Barclay W, Shinohara ML. Inflammasome activation in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Brain Pathol*, 2017, 27: 213–9.
- [11] Yu W, Jiang Y, Xu H, et al. The interaction of gut microbiota and heart failure with preserved ejection fraction: from mechanism to potential therapies. *Biomedicines*, 2023, 11: 442.
- [12] Sakurai Y, Kubota N, Yamauchi T, et al. Role of insulin resistance in MAFLD. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 4156.
- [13] Suzuki T, Hidaka T, Kumagai Y, et al. Environmental pollutants and the immune response. *Nat Immunol*, 2020, 21: 1486–95.
- [14] El Amrousy D, Elgendy E, Awad ME, et al. Three-dimensional speckle tracking echocardiography for early detection of left ventricular dysfunction in children with non-alcoholic fatty liver diseases. *Cardiol Young*, 2021, 31: 562–7.
- [15] Verma A, Kumar I, Indal M, et al. Variation in hepatic segmental portal venous pulsed wave doppler flow distribution in patients with NAFLD: a pilot study. *Ultrasound*, 2023, 31: 300–7.
- [16] Lee K, Kurniawan K. Are seed oils the culprit in cardiometabolic and chronic diseases, a narrative review. *Nutr Rev*, 2025, 83: e2106–12.
- [17] Bala S, Ganz M, Babuta M, et al. Steatosis, inflammasome upregulation, and fibrosis are attenuated in miR-155 deficient mice in a high fat-cholesterol-sugar diet-induced model of NASH. *Lab Invest*, 2021, 101: 1540–9.
- [18] Ong W, Jenner AM, Pan N, et al. Elevated oxidative stress, iron accumulation around microvessels and increased 4-hydroxynonenal immunostaining in zone 1 of the liver acinus in hypercholesterolemic rabbits. *Free Radic Res*, 2009, 43: 241–9.
- [19] Gayban AJB, Souza LAC, Cooper SG, et al. (Pro)Renin receptor antagonism attenuates high-fat-diet-induced hepatic steatosis. *Biomolecules*, 2023, 13: 142.
- [20] Zhang G, Wang X, Chung T, et al. Carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) accelerated development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)/steatohepatitis (NASH) in MS-NASH mice fed western diet supplemented with fructose (WDF). *BMC Gastroenterol*, 2020, 20: 339.
- [21] Sanches SCL, Ramalho LNZ, Augusto MJ, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a search for factual animal models. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 574832.
- [22] Pickens MK, Yan JS, Ng RK, et al. Dietary sucrose is essential to the development of liver injury in the methionine-choline-deficient model of steatohepatitis. *J Lipid Res*, 2009, 50: 2072–82.
- [23] Abu Ahmad N, Raizman M, Weizmann N, et al. Betaine attenuates pathology by stimulating lipid oxidation in liver and regulating phospholipid metabolism in brain of methionine-choline-deficient rats. *FASEB J*, 2019, 33: 9334–49.
- [24] Wu H, Lou T, Pan M, et al. Chaihu Guizhi Ganjiang Decoction attenuates nonalcoholic steatohepatitis by enhancing intestinal barrier integrity and ameliorating PPAR $\alpha$  mediated lipotoxicity. *J Ethnopharmacol*, 2024, 326: 117841.
- [25] Maldonado-Rojas ADC, Zuarth-Vázquez JM, Uribe M, et al. Insulin resistance and metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD): pathways of action of hypoglycemic agents. *Ann Hepatol*, 2024, 29: 101182.
- [26] Asgharpour A, Cazanave SC, Pacana T, et al. A diet-induced animal model of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular cancer. *J Hepatol*, 2016, 65: 579–88.
- [27] Karatayli E, Stokes CS, Lammert F. Vitamin D in preclinical models of fatty liver disease. *Anticancer Res*, 2020, 40: 527–34.
- [28] Xuan Yuan HN, Kim HS, Park GR, et al. Adenosine triphosphate-binding pocket inhibitor for mixed lineage kinase domain-like protein attenuated alcoholic liver disease via necroptosis-independent pathway. *World J Gastroenterol*, 2025, 31: 96782.
- [29] Ksiazek E, Goluch Z, Bochniak M. *Vaccinium* spp.

- berries in the prevention and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a comprehensive update of preclinical and clinical research. *Nutrients*, 2024, 16: 2940.
- [30] Matsuo M, Murata S, Hasegawa S, et al. Novel liver fibrosis model in *Macaca fascicularis* induced by thioacetamide. *Sci Rep*, 2020, 10: 2450.
- [31] Lanthier N, Delzenne N. Targeting the gut microbiome to treat metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: ready for prime time? *Cells*, 2022, 11: 2718.
- [32] Flessa C, Nasiri-Ansari N, Kyrou I, et al. Genetic and diet-induced animal models for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) research. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 15791.
- [33] Yang P, Wang Y, Tang W, et al. Western diet induces severe nonalcoholic steatohepatitis, ductular reaction, and hepatic fibrosis in liver CGI-58 knockout mice. *Sci Rep*, 2020, 10: 4701.
- [34] Du X, Osoro EK, Chen Q, et al. Pdc4 promotes lipid deposition by attenuating PPAR $\alpha$ -mediated fatty acid oxidation in hepatocytes. *Mol Cell Endocrinol*, 2022, 545: 111562.
- [35] Yang W, Yan X, Chen R, et al. Smad4 deficiency in hepatocytes attenuates NAFLD progression via inhibition of lipogenesis and macrophage polarization. *Cell Death Dis*, 2025, 16: 58.
- [36] Abdelnabi MN, Flores Molina M, Soucy G, et al. Sex-dependent hepatoprotective role of IL-22 receptor signaling in non-alcoholic fatty liver disease-related fibrosis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2022, 14: 1269–94.
- [37] Owaki T, Kamimura K, Ko M, et al. Involvement of the liver-gut peripheral neural axis in nonalcoholic fatty liver disease pathologies via hepatic HTR2A. *Dis Model Mech*, 2022, 15: dmm049612.
- [38] Lou J, Li C, Li Z, et al. Hepatic CD147 knockout modulates liver steatosis and up-regulates autophagy in high-fat-diet-induced NAFLD mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 524: 1010–7.
- [39] Plaza DF, Gomez MF, Patarroyo MA. NHP-immunome: A translational research-oriented database of non-human primate immune system proteins. *Cell Immunol*, 2020, 347: 103999.
- [40] Liu J, Xu Y, Hu Y, et al. The role of fibroblast growth factor 21 in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease and implications for therapy. *Metabolism*, 2015, 64: 380–90.
- [41] Geng L, Lam KSL, Xu A. The therapeutic potential of FGF21 in metabolic diseases: from bench to clinic. *Nat Rev Endocrinol*, 2020, 16: 654–67.
- [42] Moroni M, Lombardini E, Salber R, et al. Hematological changes as prognostic indicators of survival: similarities between *Göttingen minipigs*, humans, and other large animal models. *PLoS One*, 2011, 6: e25210.
- [43] Li G, Zhang X, Wang H, et al. CRISPR/Cas9-mediated integration of large transgene into pig CEP112 locus. *G3 (Bethesda)*, 2020, 10: 467–73.
- [44] Zhou K, Zhang D, Bao H, et al. Network pharmacology and molecular docking study on the effect of kaempferol in treatment of metabolic associated fatty liver disease. *J Tradit Chin Med*, 2022, 42: 788–94.
- [45] Zhang Y, Zhou J, Yang L, et al. *Ganoderma lucidum* spore powder alleviates metabolic-associated fatty liver disease by improving lipid accumulation and oxidative stress via autophagy. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13: 1501.