网络出版时间:2025-08-15 15:21:04 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250815.1249.011

三种不同代谢紊乱相关脂肪性肝炎小鼠模型的转录组比较分析

刘天雯[1,2],郭子宜[3],毕寒琦[4],周 冰[4],陆 炎[4],毛 斐[5],王 华[1,2]

([1]安徽医科大学第一附属医院肿瘤科,合肥 230022;[2]安徽医科大学炎症免疫性疾病安徽省实验室,合肥 230032;[3]复旦大学附属闵行医院内分泌与代谢科,上海 201199;[4]上海交通大学医学院附属上海市第六人民医院,代谢与再生医学研究院,消化内镜中心,上海 200233;[5]复旦大学附属中山医院内分泌与代谢科,上海 200032)

摘要 目的 比较分析3种代谢紊乱相关脂肪性肝炎(MASH)小鼠模型与不同阶段MASH人类患者的转录谱异同,探究更适合模拟人类疾病进展的小鼠模型。**方法** 40只8周龄雄性C57BL/6J小鼠随机分为对照的普通饮食(NCD)组以及构造MASH模型的高脂高胆固醇饮食(HFHCD)、胆碱缺乏高脂饮食(CDHFD)、蛋氨酸-胆碱缺乏饮食(MCD)组,每组10只。造模结束后,每组取3只小鼠进行肝脏mRNA-seq转录组测序,同时检索MASH患者的肝脏mRNA公共数据集,通过KEGG集富集分析比较不同小鼠模型和MASH患者的转录图谱,利用Pearson相关性分析探究各种模型与人类MASH之间差异基因表达的相关性。**结果** 3种MASH小鼠模型中,检测到7个共同的上调基因(Col1a1、Smoc2、Col6a1、Gpx3、Col16a1、Spp1和Crtap)。KEGG分析中,3种MASH小鼠模型富集到28条重叠通路,涉及脂肪变性、肝细胞损伤和纤维化等方面,其中HFHCD和MCD两种模型的重叠程度更高。比较不同小鼠模型和MASH不同阶段患者之间的差异基因表达和代谢通路,显示3种MASH小鼠模型的变化与人类MASH的纤维化进展阶段更为相似。其中,CDHFD模型的转录组特征与人类MASH更为接近。**结论** 3种MASH小鼠模型转录谱之间存在一定异同,MASH小鼠模型与人类患者MASH进展期更相似,CDHFD模型的转录组特征与人类MASH更为接近。

关键词 代谢紊乱相关脂肪性肝炎;小鼠模型;转录组;比较分析;差异基因;代谢通路

中图分类号 R 589.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)08-1445-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.08.012

代谢紊乱相关脂肪性肝病(metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease,MASLD)是代谢综合征的肝脏表现,与肥胖、胰岛素抵抗、2型糖尿病和多种癌症相关[1]。MASLD的临床表现包括单纯的肝脂肪变性,代谢紊乱相关脂肪性肝炎(metabolic dysfunction-associated steatohepatitis,MASH)及其相关的纤维化,晚期MASH可进展为肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)[2-3]。可靠的临床前模型对于研究MASH发病机制和评估潜在疗法至关重要,小鼠模型在阐明疾病机制、评估治疗措施和实现遗传操作方面发挥关键作用[4]。常用的饮食模型包括蛋氨酸-胆碱缺乏饮食(methionine- and choline-deficient diet, MCD)、高脂高胆固醇饮食(high-fat/high-cholesterol diet, HFHCD)和胆碱缺乏高脂饮食(choline-deficient and high-fat diet, CDHFD),均表现相应的肝脏代谢异常、炎症和纤维化特征[5]。尽管这些模型为探究疾病进展提供了重要见解,但其能否完全模拟人类MASH的复杂性仍存在争议[6]。转录组分析已成为探究基因表达的有力工具,有助于识别疾病中独特的分子特征[7-8]。该研究对MCD、HFHCD和CDHFD诱导的MASH小鼠模型进行了肝脏转录组分析,并将其与人类MASH数据集进行多重比较分析,旨在找出更为保守和模型特异的转录特征,加深对MASH机制的理解,提高临床前模型的转化潜能。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 高脂高胆固醇饲料(D12108C)、胆碱缺乏和高脂饲料(D12079B)、蛋氨酸和胆碱缺乏饲料(A02082002B)均购自美国Research Diets公司;TRIzol试剂(9109)购自美国赛默飞世尔科技公

2025-03-18 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:92268109)

作者简介:刘天雯,女,硕士研究生;

王 华,男,博士,教授,主任医师,博士生导师,通信作者,E-mail:wanghua@ahmu.edu.cn

中国知网 https://www.cnki.net

司。

1.2 动物实验 40 只 SPF 级别的 8 周龄雄性野生型 C57BL/6J 小鼠(平均体质量为 18 g)购自上海实验动物中心。小鼠到达 24 h 后,对其进行为期一周的适应性饲养。所有小鼠饲养于(21 ± 1) ℃,(55 ± 10)% 湿度,12 h 光照/12 h 黑暗循环的环境中。HFHCD 组:高脂高胆固醇饮食(脂肪 40 Kcal %,胆固醇 1.25%)喂养,连续 24 周。CDHFD 组:胆碱缺乏和高脂饮食喂养,连续 12 周。MCD 组:蛋氨酸和胆碱缺乏饮食喂养,连续 8 周。每组 10 只。造模结束后,腹腔注射戊巴比妥钠(Nembutal,80 mg/kg)麻醉小鼠,从下腔静脉收集血液,然后经由门静脉灌注冰镇生理盐水冲洗肝脏,采集左叶肝脏并快速冷冻在液氮中。动物实验由上海市第六人民医院动物福利伦理委员会审核批准(批号:2022-0583)。

1.3 小鼠肝脏转录组学数据集 室温下,切取约 5 mg 的液氮冷冻肝脏(n = 3),研磨溶解于 500 μL TRIzol 试剂中,遵照生产商说明分离组织总 RNA,使用安捷伦 2100 生物分析仪(Agilent,美国安捷伦科技有限公司)评估 RNA 质量。按照生产商提供的指南,使用 TruSeq Stranded Total RNA Library Prep Kit(Illumina,美国因美纳生物科技公司)去除总 RNA 中的 rRNA,构建 RNA 文库,使用 2100 生物分析仪评估文库质量和数量。随后将 RNA 文库变性为单链 DNA,在 Illumina 流式细胞仪上进行捕获以及原位扩增,并在 Illumina HiSeq 4000 平台上进行 150 个循环的测序,生成成对末端读数并进行质量控制(2.0.4 版),将高质量读数与 UCSC MM10 参考基因组进行比对。使用 Cuffdiff 软件按每千个碱基的转录每百万映射读取的片段(FPKM)量化基因表达水平,并根据差异倍数和统计显著性(P 值)确定基因差异表达。使用 KEGG 数据库对差异表达的 mRNA 进行通路富集分析。计算 Pearson 相关系数(r),使用 $\log_2$ 转换后的 FPKM 值生成热图,并将基因和组别分别聚类,评估样本的相关性和可重复性。

1.4 人类 MASH 队列测序数据集 检索整理 UCAM-VCU 和 EPoS 两个人类 MASH 队列数据集[9]。其中,UCAM-VCU 队列由两个公开数据集(E-MTAB-9815、GSE130970)组成,共包括 136 例患者,均被诊断为非酒精性脂肪肝,根据 CRN 组织学评分系统将其分为对照组(n = 4)和非酒精性脂肪肝组(n = 132),后者按照纤维化程度进一步分级:轻度(F0,n = 52),中度(F1-F2,n = 50)和重度(F3-F4,n = 30)。EPoS 队列包含来自欧盟各机构招募的非酒精性脂肪肝患者队列的数据,测序数据集(GSE135251)可公开访问。该队列由 168 例非酒精性脂肪肝患者组成,同样按照纤维化程度进行分组:轻度(F0,n = 47),中度(F1-F2,n = 64)和重度(F3-F4,n = 57)。研究均已获得相关伦理委员会的伦理批准(06/Q0106/70)。所有患者均知情并同意将其临床、生化和样本数据用于研究。

1.5 数据分析

1.5.1 基因通路富集分析 利用 FGSEA 软件包(https://github.com/ctlab/fgsea)进行基因集富集分析,该软件包可对人类和临床前模型结果进行快速的预排序分析。分析的重点是 KEGG 数据库中的通路(2019 版)。

1.5.2 结果可视化 使用 R(v.4.0.3)分析数据,随后利用 Pheatmap 软件包(v.1.0.12;https://rdrr.io/cran/pheatmap)绘制热图。使用 networkD3 软件包中的 sankeyNetwork 功能生成 Sankey 图,直观地描述从通路到基因的信号转换。使用 ggpubr 软件包(0.4.0 版)中的 ggscatter 函数和 cowplot 软件包(1.1.1 版)中的 plotgrid 函数绘制散点图,其中包括回归曲线、Pearson 相关系数以及各自的 P 值。

1.5.3 统计学处理 每组小鼠实验均重复 1 次。使用 Mann-Whitney U 检验(Wilcox.test,R stats 软件包 v.3.6)计算表型数据的原始 P 值(各组与对照组比较)。使用 Benjamini-Hochberg 法进行差异表达分析的错误发现率(false discovery rate,FDR)校正,调整原始 P 值。

2 结果

2.1 比较分析 3 种 MASH 小鼠模型中的差异基因和富集通路 构建 HFHCD、MCD、CDHFD 诱导的 MASH 小鼠模型,利用 mRNA-seq 转录组测序检测肝脏 mRNA 表达谱。首先筛选 3 种小鼠模型的差异表达基因(differentially expressed genes,DEGs),再分析获取每两组间共同的 DEGs,见图 1。在 MCD 和 HFHCD 两种模型所检测到的共同 DEGs 中,参与纤维化和细胞外基质(extracellular matrix,ECM)重塑(Col1a1、Col6a1、Crtap、Spp1),脂质代谢和炎症反应(Lepr、Apoa4、Cyp17a1)的基因均有所上调,细胞色素 P450 酶和脂肪酸代谢相关基因均下调。MCD 和 CDHFD 模型共有的 DEGs 包含与 ECM 和纤维化相关的基因(Col1a1、Col6a1、Col16a1、Adamtsl2、Smoc2、Efemp1)。研究结果显示,HFHCD 和 CDH-

中国知网 https://www.cnki.net

FD 小鼠模型共有的 DEGs 最多，重叠上调的 DEGs 平均比例高达 34%。然而，3 种小鼠模型中均检测到的共同 DEGs 数目较少，其中包括 7 个上调基因，Col1a1、Smoc2、Col6a1、Gpx3、Col16a1、Spp1 和 Crtap，它们参与 ECM 形成、抗氧化防御和胶原形成过程。

鉴于 DEGs 并不能全面反映模型的生物学特性，该研究进一步通过 GSEA 筛选出所有 MASH 小鼠模型中差异有统计学意义的 KEGG 信号通路。维恩图显示，相较于基因层面，3 种 MASH 小鼠模型在通路水平上的重叠程度都有所升高。HFHCD 和 CDHFD 两种模型中检测到 31 条重叠通路，尽管 HFHCD 和 MCD 共同的 DEGs 极少，但二者检测到 45 条重叠通路，CDHFD 和 MCD 中检测到 29 条重叠通路，见图 2A、B、C。3 种 MASH 模型中均检测到的重叠通路共 28 条，见图 2D。KEGG 通路分析聚类热图显示，3 种 MASH 小鼠模型均在代谢、免疫反应、细胞信号转导等多个重要的生物学功能通路中变化显著，表现出相似的表达调控模式，见图 2E。以上结果表明 3 种 MASH 小鼠模型具有一定程度的相似性。

2.2 跨物种基因调控和通路分析 检索整理 UCAM-VCU 以及 EPoS 两个公开的人类 MASH 患者肝脏转录组数据集，根据患者临床特征进行疾病分期。人类患者数据用作比较和分析小鼠模型转录组变化的参考基准，进而鉴定出具有 MASH 特征的 DEGs 和差异调控通路（differentially regulated pathways，DRPs）。首先将人类 MASH 数据集整理划分为 3 个部分：早期阶段（early stage，轻度 MASH 与对照组相比）、纤维化进展阶段（progressive stage，中重度 MASH 与轻度 MASH 相比）、整体疾病阶段（all stage，所有 MASH 患者与对照组相比），再由此探究小鼠模型在相对应的不同疾病阶段所存在的特定 DRPs，见图 3。分析显示，在 MASH 的早期阶段，3 种小鼠模型在果糖和甘露糖代谢、2 型糖尿病、不饱和脂肪酸生物合成等 KEGG 通路表现出相似的变化。而在 MASH 的纤维化进展阶段，细胞周期、趋化因子信号通路、细胞因子－细胞因子受体相互作用、癌症通路等 KEGG 通路变化显著，在 3 种小鼠模型中均有所上调。

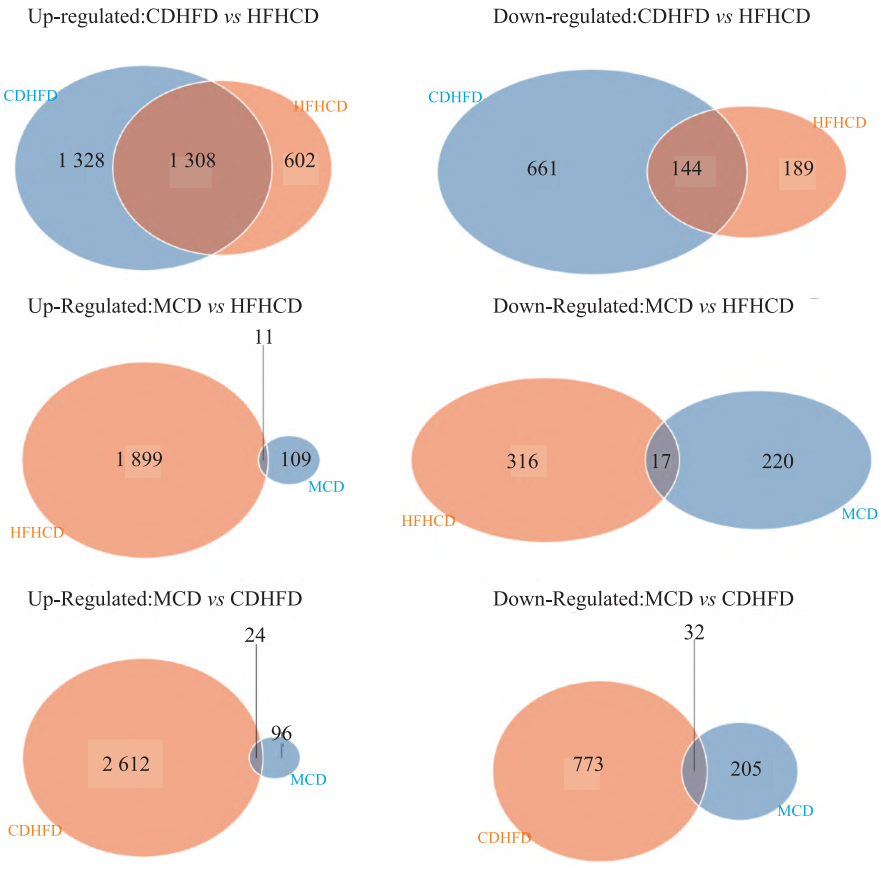

图 1 3 种小鼠 MASH 模型中重叠的 DEGs

Fig. 1 Common DEGs in three murine models of MASH

中国知网 https://www.cnki.net

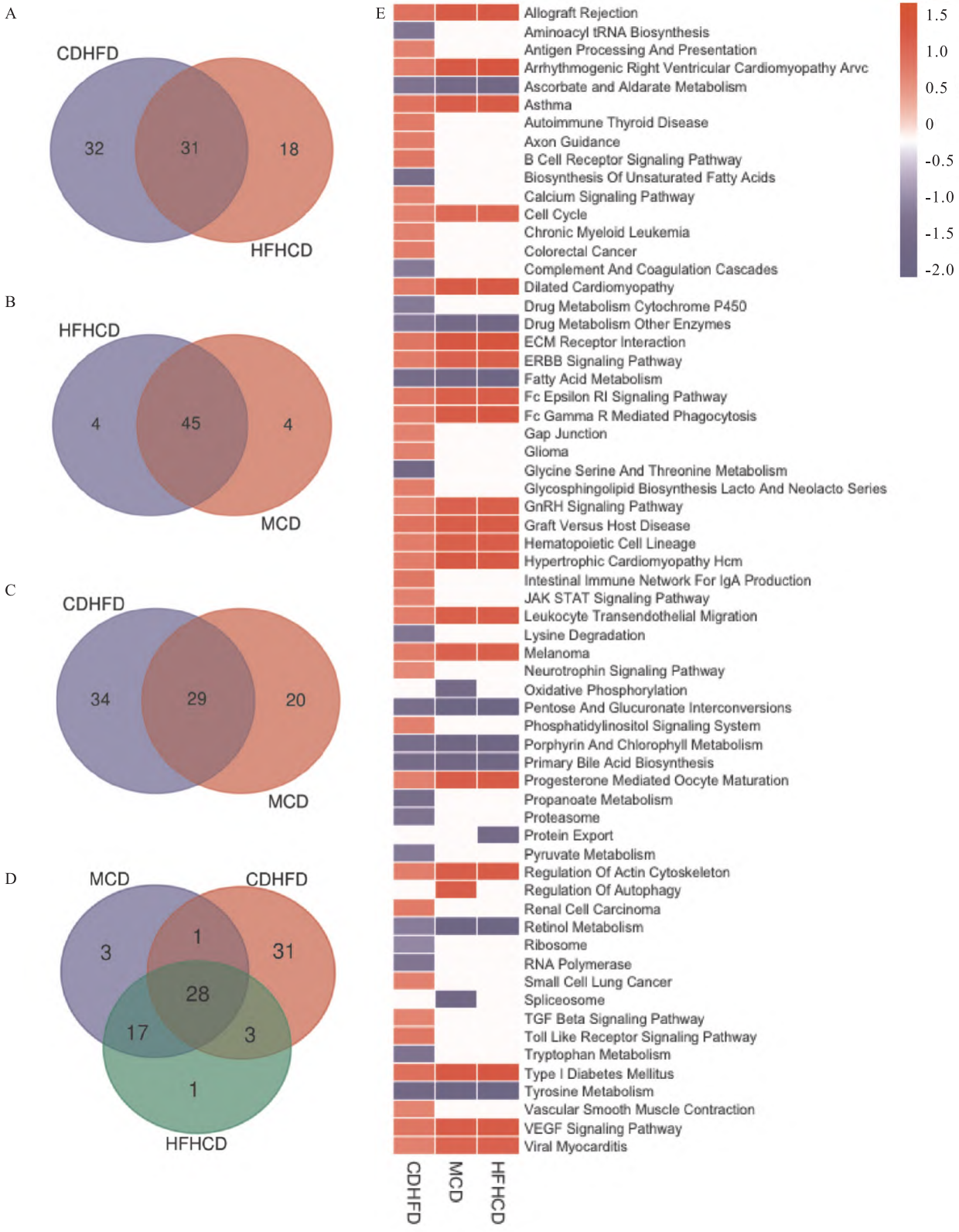

图 2　3 种 MASH 小鼠模型之间 KEGG 通路的比较

Fig. 2　Comparison of KEGG pathways between three murine models of MASH

A: Overlapping KEGG pathway between CDHFD and HFHCD; B: Overlapping KEGG pathways between HFHCD and MCD; C: Overlapping KEGG pathways between CDHFD and MCD; D: Overlapping KEGG pathways among three MASH murine models; E: Heatmap of significant KEGG pathways with $P < 0.05$.

中国知网 https://www.cnki.net

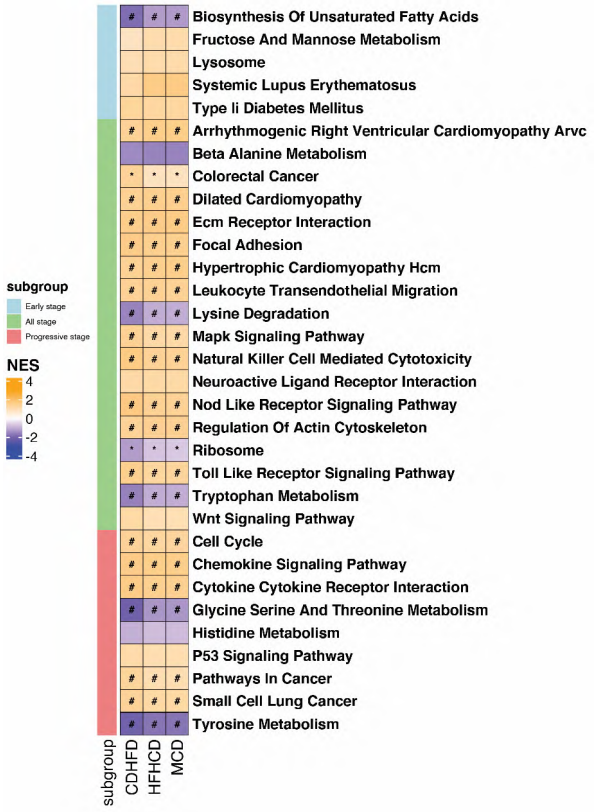

图 3　人类数据集和小鼠 MASH 模型中的 DRPs

Fig. 3　DRPs in human datasets and murine MASH models

多层面比较 3 种饮食诱导的 MASH 小鼠模型与人类 MASH 转录组数据，评估它们在 DEGs 和 DRPs 方面是否具有一致性。结果显示，在整体转录组水平上，小鼠模型与人类数据的一致程度为 50%～60%，见图 4。该研究重点分析了其中差异有统计学意义的 DEGs 和 DRPs，显示不同的 MASH 小鼠模型与人类患者不同 MASH 阶段—即前文所述的“早期阶段”“纤维化进展阶段”和“整体疾病阶段”，存在一定程度的一致性特征。结果表明，3 种 MASH 小鼠模型的 DRPs 与人类 MASH 进展期（42%～57%）的一致性远高于早期阶段（15%～20%）。分析还表明 3 种 MASH 小鼠模型与人类不同 MASH 阶段观察到的生物学通路存在相似性。总体上，表征“整体疾病阶段”的通路（局灶黏连、ECM 受体相互作用、Wnt 信号通路等）和 MASH“纤维化进展”的通路（细胞周期、细胞因子－细胞因子受体相互作用、趋化因子信号通路、癌症通路等）在 MASH 患者和 3 种小鼠模型中普遍上调。MASH 小鼠模型在 2 型糖尿病的病理生理学、溶酶体功能以及果糖和甘露糖代谢等与人类患者疾病“早期阶段”相关的通路中也显示出一致的改变。这些转录组学数据表明，3 种小鼠模型都能在一定程度上模拟人类 MASH 进展中的生物学功能失调现象。

采用线性回归模型评估 MASH 小鼠模型的基因表达谱与人类患者“早期阶段”、“整体疾病阶段”和“纤维化进展阶段”基因表达之间的相关性。结果显示，CDHFD 组和 HFHCD 组与人类患者基因表达水平之间的 Pearson 相关系数（r）为 0.27～0.53，且 P 值显著，见图 5。CDHFD 组与人类 MASH 进展期的相关性更高，HFHCD 组与人类 MASH 早期阶段的相关性更高，而 MCD 组与人类 MASH 数据没有显示出明显的相关性。

2.3　不同小鼠模型中差异表达突出的基因　分析并筛选出一些差异有统计学意义的 DEGs 以进一步了解 DEGs 和 DRPs 与 MASH 不同阶段的关系，见图 6。通过富集分析可以发现这些 DEGs 集中在一些具有显著调节作用的生物学通路中。由此筛选出一份与 MASH 不同发展阶段密切相关的生物学基因

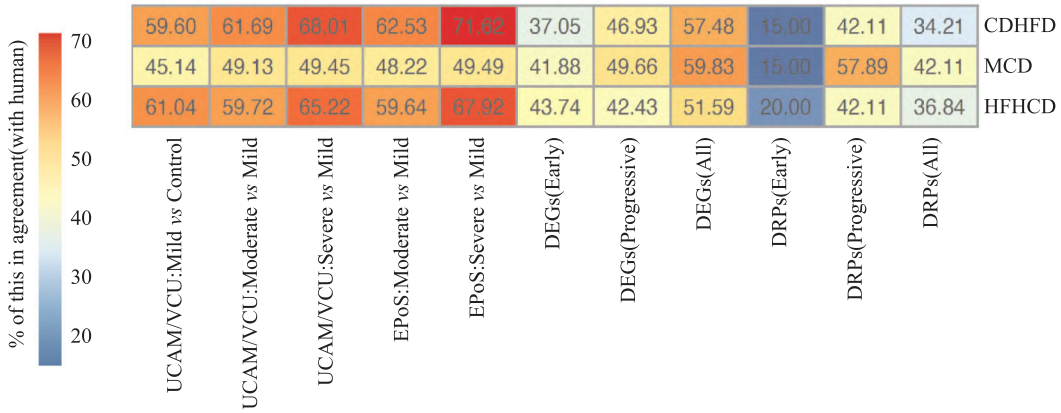

图 4　小鼠与人类 MASH 中 DEGs 和 DRPs 的一致性

Fig. 4　The consistency in DEGs and DRPs between murine and human MASH

中国知网 https://www.cnki.net

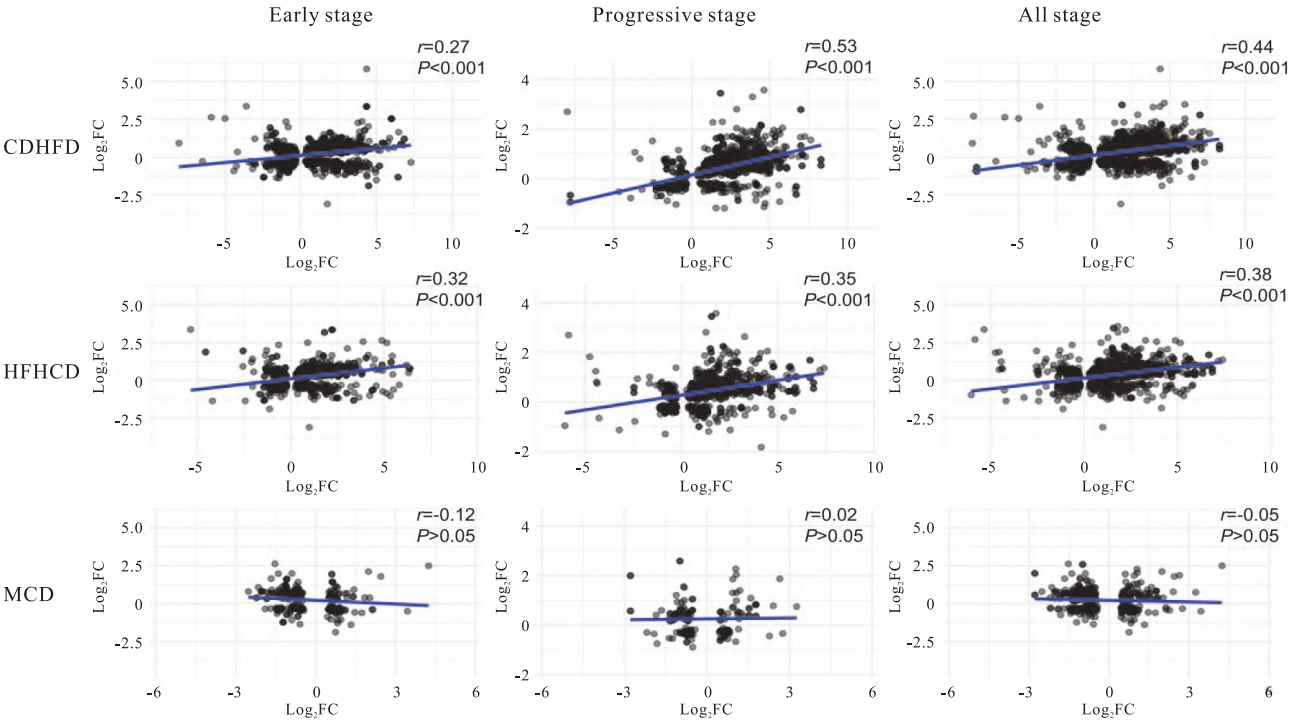

图 5　小鼠与人类 MASH 基因表达的 Pearson 相关性分析

Fig. 5　Pearson correlation analysis of murine gene expression with human MASH

子集。这份基因列表包括细胞间信号分子、跨膜信号受体、加氧酶、细胞因子、G 蛋白偶联受体，以及参与炎症浸润、细胞骨架形成和细胞生长的蛋白质。研究表明，CDHFD、MCD 和 HFHCD 3 种饮食诱导的 MASH 小鼠模型中的大量富集通路和差异基因在转录组水平上与人类 MASH 具有相似性，可以一定程度上模拟人类 MASH 发生发展过程中的基因表达改变。

3　讨论

MASH 是一种进行性肝病，是 MAFLD 疾病进程中的重要阶段[2]。其典型特征是过度的肝脂肪变性，伴有炎症和持续性的肝细胞损伤，晚期可以发展为肝纤维化，继而进展为肝硬化和肝细胞癌，是备受关注的全球性健康问题[3]。随着肥胖、2 型糖尿病以及其他代谢性疾病发病率的急剧上升，MASH 的发病率也不断攀升，胰岛素抵抗、脂质累积、氧化应激、慢性炎症以及肠道微生物群失调等多种因素对其均有影响[10]。MASH 发生肝纤维化的平均年限约为 7 年，早期干预具有重要的临床意义，但其机制错综复杂，人们对它的了解并不全面，深入探究 MASH 发生发展的分子机制对于未来制定治疗策略至关重要[11-12]。

不同方式诱导的 MASH 小鼠模型在代谢特征、组织学损伤等方面的表现有所不同[13]，该研究比较了 CDHFD、HFHCD 和 MCD 诱导的 3 种 MASH 小鼠模型的转录组特征，并进一步将其与人类 MASH 患者的肝脏转录组数据进行比较分析，探究不同代谢背景下推动 MASH 进展的分子机制，以及 MASH 不同阶段涉及到的关键分子通路，为寻找潜在的生物标志物和治疗靶点提供参考。

本研究首先比对了 3 种 MASH 小鼠模型在病程发展中的差异表达基因[14]，显示 Col1a1、Smoc2、Col6a1、Gpx3、Col16a1、Spp1 和 Crtap 在 3 种小鼠 MASH 模型中均上调。既往研究[15-16]表明，Col1a1、Smoc2、Col6a1、Col16a1 和 Crtap 参与 ECM 重塑，Spp1 参与调节肝星状细胞活化，促进肝纤维化发展。氧化应激是 MASH 中肝脏损伤、炎症和纤维化的关键驱动因素，Gpx3 作为谷胱甘肽过氧化物酶家族的成员，在对抗氧化应激方面发挥保护作用[17]。上述基因在 MASH 的进展以及肝硬化和肝细胞癌的发生发展中发挥关键作用。

KEGG 通路富集分析显示，2 种 MASH 小鼠模型中共有 28 个重叠通路，其中与脂肪变性、纤维化和肝脏再生相关的 ECM-受体相互作用、视黄醇代谢、白细胞跨内皮迁移、肌动蛋白细胞骨架的调节通

中国知网 https://www.cnki.net

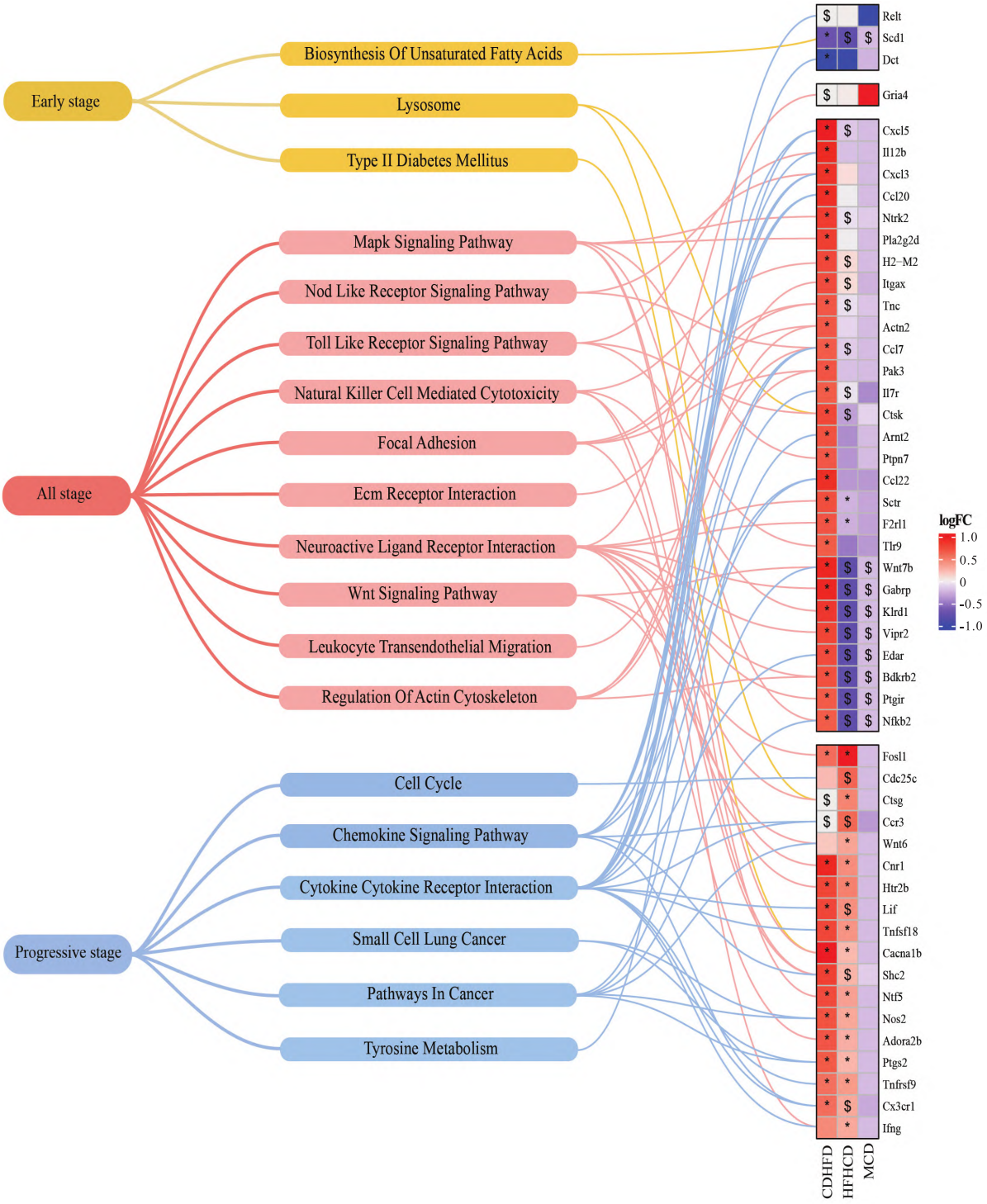

图 6　不同人类 MASH 阶段和小鼠模型中对应的高效基因

Fig. 6　Highly performing genes in human and murine MASH

路都表现出上调趋势。这表明,尽管采用不同的饮食诱导模式,2 种模型的小鼠肝脏都能一致观察到与 MASH 发展密切相关的表型特征。CDHFD 和 HFHCD 中检测到的脂肪酸代谢、白细胞迁移、ECM 相互作用和氧化应激等 31 条重叠通路,参与慢性炎症、代谢功能障碍、纤维化等多种生物学过程,促进 MASH 的发生发展。MCD 和 CDHFD 的共同通路最少,包括促进 MASH 纤维化和 HCC 进展的血管内皮生长因子信号转导、细胞周期调控和免疫反应等。HFHCD 和 MCD 的重叠通路最多,例如细胞因子 –

中国知网 https://www.cnki.net

细胞因子相互作用、白细胞跨内皮迁移、血管内皮生长因子信号通路、细胞黏附分子、ECM 受体相互作用等,在炎症、代谢、免疫反应和细胞应激等方面协同作用。3 种小鼠模型在通路水平上的重叠证明它们在生物功能调节方面具有相似性。

小鼠模型可以在分子水平上模拟人类疾病进程[18],本研究比较分析了 3 种 MASH 小鼠模型与 304 例处于不同 MASH 阶段的患者之间的基因表达和通路特征。统计结果表明,相较于早期阶段,3 种 MASH 小鼠模型与人类 MASH 进展期的 DRPs 一致性更高。对小鼠模型和不同 MASH 阶段人类患者的 DEGs 进行 Pearson 相关性分析发现,CDHFD 模型与人类患者数据中的进展阶段更为一致(r = 0.526,P < 0.001)。各项结果表明,相较于疾病的早期阶段和整个阶段,本研究中的 3 种 MASH 小鼠模型都与人类 MASH 患者的进展期更为相似。整体来说,CDHFD 模型的转录组特征更接近于人类 MASH 患者,尤其是在肝脂肪变性到严重纤维化的进展过程。以上数据表明,人类和小鼠的差异基因以及生物学通路之间存在适度的对应关系,小鼠模型并不能完全模拟人类 MASH 的复杂性,两者之间只存在一定程度的重叠。

人类 MASH 是一种异质性疾病,包括脂肪变性、纤维化等不同阶段,每个阶段都展现出复杂的转录特征[13]。临床前研究的最终目标是建立一个能再现 MASH 病理生理学并最大程度模拟人类疾病的小鼠模型[19]。该研究对 MASH 小鼠模型和人类患者肝脏转录组数据进行比较分析,阐明了不同 MASH 小鼠模型的基因表达特点,为未来研究疾病机制和药物干预选择相应 MASH 模型提供一定参考。

参考文献

[1] Rinella M E, Lazarus J V, Ratziu V, et al. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature[J]. J Hepatol, 2023, 79(6): 1542 - 56. doi:10.1016/j.jhep.2023.06.003.

[2] Younossi Z, Anstee Q M, Marietti M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(1): 11 - 20. doi:10.1038/nrgastro.2017.109.

[3] Anstee Q M, Reeves H L, Kotsiliti E, et al. From NASH to HCC: current concepts and future challenges[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(7): 411 - 28. doi:10.1038/s41575 - 019 - 0145 - 7.

[4] Basha A, May S C, Anderson R M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: translating disease mechanisms into therapeutics using animal models[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(12): 9996. doi:10.3390/ijms24129996.

[5] Anstee Q M. Animal models in nonalcoholic steatohepatitis research: utility and clinical translation[J]. Liver Int, 2011, 31(4): 440 - 2. doi:10.1111/j.1478 - 3231.2011.02463.x.

[6] Zheng Q, Zhu M, Zeng X, et al. Comparison of animal models for the study of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Lab Invest, 2023, 103(7): 100129. doi:10.1016/j.labinv.2023.100129.

[7] Govaere O, Cockell S, Tiniakos D, et al. Transcriptomic profiling across the nonalcoholic fatty liver disease spectrum reveals gene signatures for steatohepatitis and fibrosis[J]. Sci Transl Med, 2020, 12(572): eaba4448. doi: 10.1126/scitranslmed.aba4448.

[8] 张 蕾, 张素梅, 杨 振, 等. 基于转录组学分析昆布多糖对 C57BL/6 小鼠非增生性糖尿病视网膜病变的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(3): 392 - 8. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2025.03.002.

[8] Zhang L, Zhang S M, Yang Z, et al. Effects of laminarin on nonproliferative diabetic retinopathy in C57BL/6 mice based on transcriptomics analysis[J]. Acta Univ Med Anhui, 2025, 60(3): 392 - 8. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2025.03.002.

[9] Vacca M, Kamzolas I, Harder L M, et al. An unbiased ranking of murine dietary models based on their proximity to human metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD)[J]. Nat Metab, 2024, 6(6): 1178 - 96. doi:10.1038/s42255 - 024 - 01043 - 6.

[10] Huang D Q, Wong V W S, Rinella M E, et al. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease in adults[J]. Nat Rev Dis Primers, 2025, 11(1): 14. doi:10.1038/s41572 - 025 - 00599 - 1.

[11] Jiang M, Wu N, Chen X, et al. Pathogenesis of and major animal models used for nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Int Med Res, 2019, 47(4): 1453 - 66. doi: 10.1177/0300060519833527.

[12] Loomba R, Friedman S L, Shulman G I. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Cell, 2021, 184(10): 2537 - 64. doi:10.1016/j.cell.2021.04.015.

[13] Hardy T, Oakley F, Anstee Q M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and disease spectrum[J]. Annu Rev Pathol, 2016, 11: 451 - 96. doi: 10.1146/annurev-pathol-012615 - 044224.

[14] Moylan C A, Pang H, Dellinger A, et al. Hepatic gene expression profiles differentiate presymptomatic patients with mild versus severe nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2014, 59(2): 471 - 82. doi:10.1002/hep.26661.

[15] Wang W, Liu X, Wei P, et al. SPP1 and CXCL9 promote non-alcoholic steatohepatitis progression based on bioinformatics analysis and experimental studies[J]. Front Med (Lausanne), 2022, 9: 862278. doi:10.3389/fmed.2022.862278.

[16] Wu X, Yuan C, Pan J, et al. CXCL9, IL2RB, and SPP1, poten-

中国知网 https://www.cnki.net

tial diagnostic biomarkers in the co-morbidity pattern of atherosclerosis and non-alcoholic steatohepatitis[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 16364. doi:10.1038/s41598-024-66287-4.

[17] Day K, Seale L A, Graham R M, et al. Selenotranscriptome network in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Front Nutr, 2021, 8: 744825. doi:10.3389/fnut.2021.744825.

[18] St Rose K, Yan J, Xu F, et al. Mouse model of NASH that replicates key features of the human disease and progresses to fibrosis stage 3[J]. Hepatol Commun, 2022, 6(10): 2676-88. doi: 10.1002/hep4.2035.

[19] Santhekadur P K, Kumar D P, Sanyal A J. Preclinical models of non-alcoholic fatty liver disease[J]. J Hepatol, 2018, 68(2): 230-7. doi:10.1016/j.jhep.2017.10.031.

Comparative transcriptome profiling of three different murine models of metabolic dysfunction-associated steatohepatitis

Liu Tianwen[1,2], Guo Ziyi[3], Bi Hanqi[4], Zhou Bing[4], Lu Yan[4], Mao Fei[5], Wang Hua[1,2]

([1]*Dept of Oncology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei* 230022; [2]*Inflammation and Immune-mediated Diseases Laboratory of Anhui Province, Anhui Medical University, Hefei* 230032; [3]*Dept of Endocrinology and Metabolism, Minhang Hospital, Fudan University, Shanghai* 201199; [4]*Institute of Metabolism and Regenerative Medicine, Digestive Endoscopic Center, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai* 200233; [5]*Dept of Endocrinology and Metabolism, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai* 200032)

Abstract ***Objective*** To compare the transcriptomic profiles between three distinct metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH) murine models and human patients at various disease stages in order to identify the optimal murine model that more closely resembles human MASH progression. ***Methods*** Forty 8-week-old male C57BL/6J mice were randomly assigned to either a control group fed normal chow diet (NCD) or one of three MASH model groups receiving high-fat high-cholesterol diet (HFHCD), choline-deficient high-fat diet (CDHFD), or methionine-choline deficient diet (MCD), with 10 mice per group. Following model establishment, liver tissues from three randomly selected mice per group were collected for mRNA sequencing (mRNA-seq) analysis. Meanwhile, mRNA expression data of patients at different stages of MASH progression were obtained from public databases. Overlap of functional profiles was analyzed by gene set enrichment analysis (GSEA) profiles to compare the mouse transcriptome with that of human patients at different stages of the disease. Additionally, Pearson's correlation analysis was used to explore the correlation between gene expression of murine models and human MASH. ***Results*** Seven commonly up-regulated genes (Col1a1, Smoc2, Col6a1, Gpx3, Col16a1, Spp1 and Crtap) were detected in the three MASH murine models. KEGG analysis showed that a total of 28 significantly overlapping pathways involving steatosis, hepatocellular injury and fibrosis were detected in the three MASH models at the pathway level. HFHCD and MCD might share more common traits. In comparing gene expression and pathway profiles between different murine models and patients with different stages of MASH, all three murine MASH models showed a closer resemblance to the human progressive stages of MASH. Notably, the transcriptomic features of the CDHFD model were more consistent with those of human MASH. ***Conclusion*** There are certain similarities and differences among the transcriptional profiles of the three MASH models. The MASH models are more similar to the advanced stage of MASH in human patients. Compared to the other two models, the CDHFD model's transcriptome profile more closely resembles human MASH.

Key words MASH; murine models; transcriptome; comparative analysis; differentially expressed genes; metabolic pathway

Fund program National Natural Science Foundation of China (No. 92268109)

Corresponding author Wang Hua, E-mail: wanghua@ahmu.edu.cn

中国知网 https://www.cnki.net