

· 基础研究 ·

小檗碱对高脂饮食诱导非酒精性脂肪性肝病大鼠肝细胞脂质沉积的干预作用

韩 莉¹ 杨钦河² 张玉佩² 闫海震² 朱晓峰¹ 龚享文² 金 玲¹ 王攀攀¹ 刘益臻² 梁荫基²

摘要 目的 探讨小檗碱对高脂饮食诱导非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠脂质代谢紊乱及肝细胞脂质沉积的影响。**方法** SPF级雄性SD大鼠45只,适应性喂养1周后,随机分为正常组、模型组、小檗碱组,每组各15只。除正常组给予维持期饲料外,其余两组均采用高脂饮食喂养复制大鼠NAFLD模型,在施以造模因素的同时,小檗碱组灌胃盐酸小檗碱进行干预,8周后行HE、油红O染色进行模型鉴定,分离肝细胞,Typan blue染色和FCM对肝细胞分别进行活性和纯度鉴定;全自动生化分析仪检测血清及肝组织脂质情况;实时定量PCR法检测肝细胞肝X受体(liver X receptor, LXR)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)表达水平;Western blot法检测肝细胞LXR α 、FAS蛋白表达水平。**结果** 高脂饮食诱导成功建立NAFLD实验动物模型,每只大鼠获得纯化后的肝细胞($6.0 \sim 7.5$) $\times 10^8$ 个/肝,经Typan blue染色的细胞活力均在95%以上,FCM检测纯度均在90%以上;与正常组比较,模型组肝细胞LXR α 、FAS mRNA及蛋白的表达水平均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,小檗碱组LXR α 、FAS mRNA及蛋白表达水平明显下调($P < 0.01$)。**结论** LXR α /FAS通路是NAFLD脂质平衡代谢紊乱重要的信号通路,小檗碱通过调控肝细胞LXR α /FAS通路使NAFLD大鼠肝细胞脂质沉积恢复,可能是小檗碱抗NAFLD的重要机制之一。

关键词 非酒精性脂肪性肝病;小檗碱;肝细胞;肝X受体 α ;脂肪酸合成酶

Intervention of Berberine on Lipid Deposition in Liver Cells of Non-alcoholic Fatty Liver Disease Rats Induced by High Fat Diet HAN Li¹, YANG Qin-he², ZHANG Yu-pei², YAN Hai-zhen², ZHU Xiao-feng¹, GONG Xiang-wen², JIN Ling¹, WANG Pan-pan¹, LIU Yi-zhen², and LIANG Yin-ji² 1 First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangdong (510632), China; 2 Medical School of Jinan University, Guangdong (510632), China

ABSTRACT Objective To explore the effect of berberine on lipid metabolism disorder and lipid deposition in liver cells of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats induced by high fat diet. **Methods** After one week adaptable feeding, 45 SPF level male SD rats were randomly divided into 3 groups, the normal control group, the model group, and the berberine group, 15 in each group. Except those in the normal control group, all rats were fed with high fat diet to prepare NAFLD model. As for rats in the berberine group, Berberine Hydrochloride was administered by gastrogavage. HE staining and oil red O staining were performed to identify the model after 8 weeks. Hepatocytes were isolated, and their activities and purities were tested by Typan blue staining and flow cytometry (FCM). Serum levels of TC, TG, HDL-C, and LDL-C were detected using automatic biochemical analyzer. mRNA expression levels of LXR α and FAS in liver cells were analyzed by Real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR). Protein levels of LXR α and FAS in liver cells were examined by Western blot. **Results** The NAFLD rat model was successfully established by high fat diet. The yields of purified liver cells in each rat were

基金项目:广东省建设中医药强省资助项目(No. 20122112; No. 20122119)

作者单位:1.暨南大学附属第一医院肝病科(广州 510632);2.暨南大学医学院(广州 510632)

通讯作者:杨钦河, Tel: 020-85226197, E-mail: tyangqh@jnu.edu.cn

DOI: 10.7661/CJIM.2015.03.0314

$(6.0 - 7.5) \times 10^8$ 。The viability of isolated liver cells with purity over 90% (tested by FCM analysis) was higher than 95%. Compared with the normal control group, the expression of LXR α and FAS at mRNA and protein levels was higher in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the expression of LXR α and FAS at mRNA and protein levels was obviously down-regulated in the berberine group ($P < 0.01$). Conclusions LXR α /FAS signaling pathway was one of important signaling pathways of NAFLD lipid metabolism disorders. Berberine could recover hepatocyte fatty deposits in NAFLD rats by adjusting the LXR/FAS signaling pathway of hepatocytes, which might be one of important mechanisms for fighting against NAFLD.

KEYWORDS non-alcoholic fatty liver disease; berberine; liver cell; liver X receptor α ; fatty acid synthetase

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种与遗传——环境——代谢应激相关且无过量饮酒史、以肝细胞脂肪变性和脂质贮积为特征的临床病理综合征,包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、相关肝硬化、肝癌等。NAFLD 的发生发展机制,目前尚不完全清楚,研究认为 NAFLD 发病机制与脂质过氧化、胰岛素抵抗、氧化应激等作用相关,其中从脂质代谢通路的研究成为近年研究的热点。研究表明,脂质代谢异常是 NAFLD 发病机制中最关键也是最基础的环节之一^[1,2],肝 X 受体(liver X receptor, LXR)/脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)通路是调控肝细胞脂肪代谢平衡的重要通路之一,通过对肝细胞的脂肪代谢平衡的影响,进而导致肝细胞脂质沉积^[3,4]。因此,调控 LXR α 、FAS mRNA 和蛋白的表达,可能是有效防治 NAFLD 的途径之一。本课题组既往应用小檗碱对 NAFLD 大鼠模型进行干预后研究发现,小檗碱能够显著改善 NAFLD 大鼠病理变化、肝功能和脂质代谢异常,且具有降低解偶联-2(uncoupling protein 2, UCP2)基因和蛋白表达,提高过氧化脂质体增殖激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPAR α)基因和蛋白表达水平的作用^[5,6]。本实验通过观察小檗碱干预后大鼠肝细胞内 LXR α 、FAS 和蛋白变化,探讨小檗碱抗大鼠 NAFLD 的分子机制,旨在阐明 NAFLD 发病机制并为临床防治提供理论及实验依据。

材料与方法

1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 45 只,体质量(200 ± 20)g,购于广州中医药大学实验动物中心,实验动物批号(No. 0107792),使用许可证号:SCXK(粤)2008-0020;饲养在暨南大学实验动物管理中心 SPF 级动物房独立送风系统笼盒(individually

ventilate cages, IVC)内,使用许可证号:SYXK(粤)2012-0117。

2 饲料配方 维持期饲料由暨南大学实验动物管理中心提供,高脂饲料由南方医科大学实验动物中心加工,广州华大生物科技有限公司辐照中心钴 60 照射灭菌(辐照剂量 25.0 kGy)。高脂饲料配方:维持期饲料 88%,猪油 10%,胆固醇 1.5%,胆盐 0.5%。

3 药物及试剂 盐酸小檗碱片(0.1 g/片,广东华南药业集团有限公司,批号:121103),购于暨南大学附属第一医院西药房;胆固醇(No.wj201204)、3 号胆盐(No.wj201206)购自广州齐云生物科技有限公司;Nycoden AG(No. 10146293)购自挪威 Axis-shield 公司;IV 型胶原酶(No. 1264786)购自美国 GIBCO 公司;改良型 RPMI-1640 培养基、胎牛血清(No.NXF0650)购自美国 Hyclone 公司;Anti-CK18(No.bs1439R)购自武汉博士德生物技术有限公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。Quant cDNA 第一链合成试剂盒(No.DRR047A)、SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒(No.DRR820A)购自日本 Takara 公司。Anti-LXR α (No.GR9889-9)购自美国 Abcam 公司;Anti-FAS(No.Y1092905CS)购自美国 Epitomic 公司;GAPDH(No.M121107)购自杭州华安生物技术有限公司;羊抗兔 IgG(No.GA1013)购自广州雅怡生物有限公司。

4 分组、造模及给药方法 NAFLD 大鼠模型建立采用课题组前期实验方法^[6-8],并加以改进。各组大鼠适应性饲养 1 周后,根据体重采用随机数字表法随机分为 3 组,每组 15 只(9 只用来常规检测,6 只用来分离肝细胞),分别为:正常组[实验动物饮用水 10 mL/(kg·d)],模型组[实验动物饮用水 10 mL/(kg·d)],小檗碱组[盐酸小檗碱片 162 mg/(kg·d)],除正常组大鼠给予维持期饲料喂养外,其余各组

均以高脂饲料喂养。每天定时灌胃,每周定时称重,并根据大鼠体重调整用药量,连续 8 周,各组动物均自由饮水进食,分笼(每笼 5 只)饲养于暨南大学实验动物管理中心 SPF 级动物房 IVC 内,(22±2)℃、明暗各 12 h。

5 标本采集与样本制备 各组大鼠末次给药后,禁食不禁水 12 h,每组取 9 只,3% 戊巴比妥钠(2 mL/kg)腹腔注射麻醉,腹主动脉采血,摘取肝脏,取相同部位肝右叶组织若干块待检,其余 6 只大鼠采用离体循环灌注胶原酶法分离肝细胞。

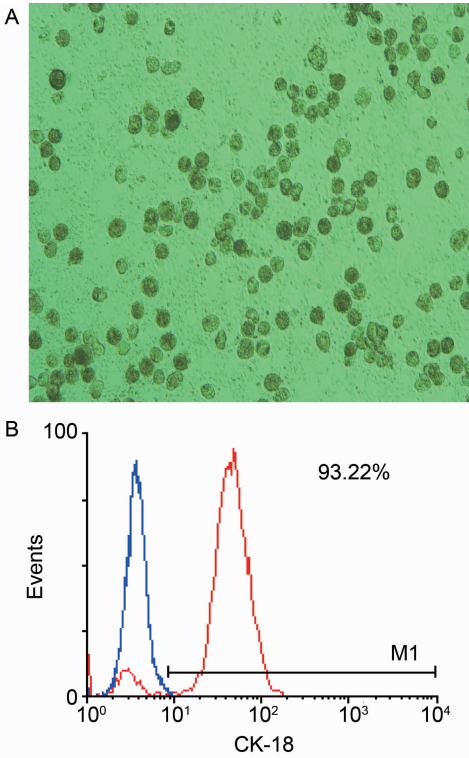
5.1 血生化检测 大鼠经腹腔注射麻醉后,随即从腹主动脉取血,每只大鼠约可采集 8~10 mL 全血,静置 30 min,4℃,3 000 r/min 离心 3 min,取血清 200 μL,交由暨南大学附属第一医院检验科,采用全自动生化分析仪检测各组大鼠血清中 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 含量。

5.2 肝细胞分离与纯化 在前期细胞分离与鉴定的基础上加以改进^[9],RPMI-1640 培养基(含 10% 胎牛血清)10 mL,在无菌培养皿中,撕开肝包膜,使细胞悬液流出,剪碎未完全消化的肝组织。使细胞悬液分别通过 200 目及 300 目细胞筛网,GBSS 液垂悬,800 r/min×3 min×2,4℃离心。离心沉淀物加 GBSS 液垂悬,800 r/min×3 min×2,4℃离心洗涤,10% RPMI-1640 培养基垂悬所得沉淀,取悬液 9:1 染色进行细胞计数,细胞终浓度调整为(2~5)×10⁶ 个/mL,此即为分离所获肝细胞,接种于细胞培养瓶,置于 37℃、5%的 CO₂ 培养箱中培养,对所提取肝细胞计数,并观察肝细胞形态及活性。每只 NAFLD 大鼠纯化后获得肝细胞数量为(6.0~7.5)×10⁸ 个/肝。新鲜分离的肝细胞透亮、呈圆形或球形,折光性强,边界清晰;12 h 后细胞透亮、呈圆形或椭圆形、边缘伸展。取少量用胰蛋白酶消化后行 Typan blue 染色,血细胞计数板在倒置相差显微镜下细胞计数,测定其活力均在 95% 以上。

5.3 肝细胞 FCM 鉴定(图 1) 胰酶消化细胞后,PBS 洗涤两次,固定剂固定 15 min,离心去上清后,加入破膜试剂,加入一抗(兔抗大鼠 CK-18),室温孵育 30 min,加入二抗(羊抗兔 IgG-FITC)室温孵育 30 min,破膜试剂洗涤 2 次后,上机检测。FCM 检测结果:共检测细胞 10 000 个,CK-18 受体表达的细胞共 9 322 个,占有细胞比例为 93.22%,即肝细胞纯度为 93.22%,细胞数量、纯度均符合后续检测的要求。

5.4 肝细胞 LXRα 和 FAS mRNA 测定(表 1)

肝细胞 RNA 的提取和逆转录反应:TRizol 提取肝细胞 RNA,测定含量并计算浓度,采用 Oligo(dT)逆转录法,将 RNA 逆转录为 cDNA。引物设计与合成:据 Genebank 提供 LXRα(NM-019178.1)、FAS(NM-031020.2)、GAPDH(NM-017008.3)基因序列,以大鼠 GAPDH 作为内参基因,引物由上海捷瑞生物工程有限公司设计并合成。



注:A 为纯化后的肝细胞(12 h,×100);

B 为 FCM 细胞鉴定结果(12 h)

图 1 纯化后的肝细胞及 FCM 细胞鉴定结果

表 1 实时定量 PCR 引物序列表

基因	引物序列	扩增长度(bp)
LXRα	上游:5'-AGAAACTGAAGCGTCAAGAAGAGG-3'	148
	下游:5'-GGCAGCCACCAACTTCTCAA-3'	
FAS	上游:5'-ATGGCTGTCCTGCCTCTGGT-3'	193
	下游:5'-CACGAACGCTCCTCTTCAACTC-3'	
GAPDH	上游:5'-GATCCCGCTAACATCAAATG-3'	134
	下游:5'-GAGGGAGTTGTTCATATTTCTC-3'	

反应体系:2.5×RealMasterMix/20×SYBR solution 9 μL,上、下游引物各 2 μL,DNA 模板 1 μL,加灭菌双蒸水补至总体积 20 μL。反应条件:(1)95℃持续 1 min 预变性;(2)95℃持续 10 s 变性;(3)GAPDH 57.5℃,LXRα 54℃,FAS 54℃,退火 20 s;(4)68℃持续 30 s 延伸,(2)~(4)39 个循环;(5)溶解曲线分析,72~95℃,持续 5~10 s。反应完毕,采用

Opticon Monitor3.1 软件分析结果,用公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行相对定量。 Ct 值 = 每个反应管内的荧光信号到达所设定的域值时所经历的循环数, $\Delta\Delta Ct = (Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{实验组} - (Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{正常组}$, 以未处理的正常组基因表达为 1, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ = 实验组目的基因表达相对于正常组的变化倍数。

5.5 Western Blot 分析肝细胞中 LXR α 和 FAS 蛋白的表达 计数新鲜分离的肝细胞,按照 $5 \sim 10 \times 10^6$ 加入 1 mL RIPA 裂解液,全程冰上操作。匀浆,裂解 30 min 后,将裂解液移至 1.5 mL EP 管中,4 $^{\circ}C$, 12 000 r/min,离心 5 min,取上清,置于 $-80^{\circ}C$ 保存配置 BSA 标准液,混匀后室温放置 2 min,在分光光度计上比色分析,检测样品蛋白含量。配置凝胶(碧云天 SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒),上样(每组均设附孔,分析时取两条带灰度的平均值),电泳进行蛋白质的电转移与膜的封闭;洗膜,新鲜配制的一抗封闭液(GAPDH: 1/5 000;LXR α :1/10 000;FAS: 1/10 000),4 $^{\circ}C$ 过夜;洗膜以除去过量的一抗;将膜转入另一塑料袋中,加入溶于封闭液的二抗;封口室温振摇孵育 1~2 h;TBST 漂洗 3~5 次,每次 10 min,洗去未结合的二抗,Super ECL 发光液化学发光,凝胶图像分析。

6 统计学方法 数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用单因素方差分析,方差齐时用 LSD 法和 SNK 法进行组间两两比较,方差不齐时用 Tamhane's T_2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠血清 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 含量比较(表 2) 与正常组比较,模型组大鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 含量显著升高($P < 0.01$),HDL-C 含量显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,小檗碱组大鼠血清 TC、LDL-C 含量显著降低($P < 0.01$),TG 有下降趋势,但差异无统计学意义。

表 2 各组大鼠血清 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 含量比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常	8	1.29 $\pm$ 0.23	0.318 $\pm$ 0.020	1.31 $\pm$ 0.12	0.35 $\pm$ 0.11
模型	8	3.84 $\pm$ 1.06 *	0.434 $\pm$ 0.052 *	0.85 $\pm$ 0.11 *	2.98 $\pm$ 0.81 *
小檗碱	9	1.49 $\pm$ 0.64 Δ	0.373 $\pm$ 0.169	0.92 $\pm$ 0.33	0.84 $\pm$ 0.67 Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

2 各组大鼠肝组织 TC、TG 含量比较(表 3) 与正常组比较,模型组大鼠肝组织 TC、TG 含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,小檗碱组大鼠肝组织

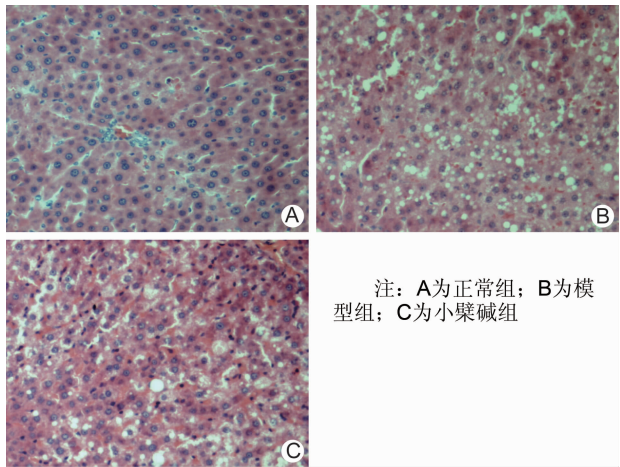
表 3 各组大鼠肝组织 TC、TG 含量比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	TC	TG
正常	8	1.02 $\pm$ 0.09	1.38 $\pm$ 0.23
模型	8	6.94 $\pm$ 0.95 *	5.90 $\pm$ 1.51 *
小檗碱	9	4.87 $\pm$ 0.73 Δ	3.28 $\pm$ 0.29 Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

TC、TG 含量明显降低($P < 0.05$)。

3 各组大鼠肝组织 HE 染色病理结果(图 2) 正常组大鼠肝小叶轮廓清晰,中央静脉位于肝小叶正中,肝窦结构正常,肝索以中央静脉为轴心呈放射状排列。肝细胞呈多边形,细胞核位于细胞中央,核大而圆,染色明显,细胞质丰富呈红染,无空泡现象。模型组大鼠肝小叶轮廓欠清晰,中央静脉可见,肝窦结构难以辨认,肝索结构紊乱,排列不齐,肝细胞肿胀,细胞核位于细胞边缘,细胞浆内可见大小不等的小空泡,亦可见肝细胞小空泡融合成大泡。小檗碱组大鼠肝组织结构介于正常组与模型组之间,大鼠肝组织结构与正常组接近。



注: A 为正常组; B 为模型组; C 为小檗碱组

图 2 各组大鼠肝组织病理结果 (HE, $\times 100$)

4 各组大鼠肝组织油红 O 染色病理结果(图 3) 正常组大鼠肝细胞核呈淡蓝染色,少许肝细胞胞浆内可见散在的红染脂滴。模型组大鼠肝细胞肿胀,细胞核呈深蓝染色,细胞浆可见大量红色脂滴,少许肝细胞脂滴融合成大脂滴。小檗碱组大鼠肝细胞脂滴含量介于正常组与模型组之间,肝细胞脂滴含量与正常组较为接近。

5 各组大鼠肝细胞 LXR α 和 FAS mRNA 相对表达水平比较(表 4) 与正常组比较,模型组肝细胞 LXR α 、FAS mRNA 明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,小檗碱组 LXR α 、FAS mRNA 显著降低($P < 0.01$)。

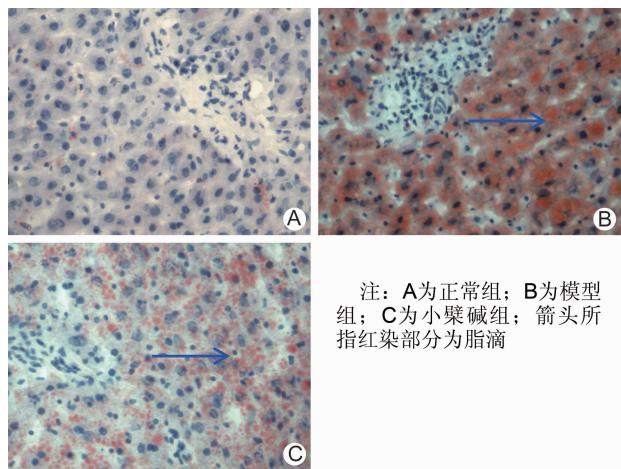


图3 各组大鼠肝组织病理结果（油红 O，×100）

表4 各组肝细胞 LXRα、FAS mRNA
相对表达水平比较（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	n	LXRα mRNA	FAS mRNA
正常	6	0.417 ± 0.084	0.346 ± 0.070
模型	6	1.134 ± 0.107 *	1.260 ± 0.200 *
小檗碱	6	0.715 ± 0.014 [△]	0.587 ± 0.110 [△]

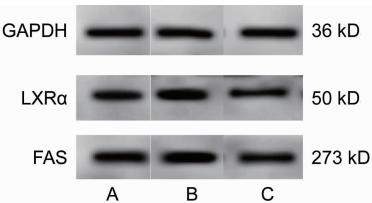
注：与正常组比较，**P* < 0.01；与模型组比较，[△]*P* < 0.01

6 各组大鼠肝细胞 LXRα 和 FAS 蛋白表达比较（表 5，图 4）与正常组比较，模型组肝细胞 LXRα 和 FAS 蛋白表达均显著升高（*P* < 0.01）；与模型组比较，小檗碱组 LXRα、FAS 蛋白表达显著降低（*P* < 0.01）

表5 各组大鼠肝细胞 LXRα 和 FAS 蛋白表达比较（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	n	LXRα	FAS
正常	6	0.475 ± 0.071	0.27 ± 0.05
模型	6	1.044 ± 0.019 *	0.94 ± 0.03 *
小檗碱	6	0.808 ± 0.052 [△]	0.56 ± 0.06 [△]

注：与正常组比较，**P* < 0.01；与模型组比较，[△]*P* < 0.01



注：A 为正常组；B 为模型组；C 为小檗碱组

图4 肝细胞 LXRα、FAS 蛋白灰度值比较

讨 论

脂质代谢异常是 NAFLD 发病机制中最关键、最基础的环节之一，研究表明，脂质代谢紊乱导致肝细胞内脂质过度蓄积是形成 NAFLD 的先决条件及关键病

理环节，各种因素相互影响，造成肝脏脂质代谢的合成、降解失衡，导致脂质在肝细胞内异常蓄积而发生 NAFLD^[1, 10, 11]。

LXR 是核受体超家族转录因子成员，为 TC 代谢的感受器。同时它还起到调节脂肪形成、参与糖代谢、免疫与炎症反应等。包括 LXRα 和 LXRβ 两个亚型。近年来研究发现，LXRα 是调控肝脏脂质代谢的重要核转录因子，是脂肪酸代谢中的关键调控点；LXRα、FAS 在 NAFLD 的发病过程中发挥着重要作用，除调节 TC 逆向转运以外，同样参与肝脏内脂肪酸的转运与代谢^[12-14]。研究表明，LXRα 可直接活化 FAS 的转录，因为 FAS 启动子同时含有 LXRα 和 SREBP-1c 的结合位点。也可通过上调 SREBP-1c 的表达，激活多种参与脂肪酸和 TG 合成的酶转录，包括 FAS、乙酰 CoA 羧化酶（Acetyl-CoA carboxylase, ACC）、和硬脂酰 CoA 去饱和酶（Stearoyl-CoA desaturase, SCD-1）等，从而引起 TG 在肝细胞内蓄积，导致 NAFLD 的发生^[15, 16]。

中医学没有“脂肪肝”病名，根据其临床表现，大多归属于“胁痛”、“痰证”、“瘀证”、“癥瘕”等病证范畴。NAFLD 多为过食膏粱厚味肥甘等助湿生痰之品，致湿浊中生、困扰脾土，脾失健运，则精微不化，湿热内蕴，最终形成湿浊痰瘀互结，痹阻肝脉而形成 NAFLD。既往研究发现，湿浊痰瘀既是其病理产物又可成为新的致病因素^[17-19]。小檗碱又称黄连素，是从中药黄连、黄柏等植物提取的一种异喹啉生物碱，具有黄连、黄柏清热燥湿解毒的属性。临床上广泛用于治疗湿热型胃肠炎、细菌性痢疾、NAFLD 等疾病^[20, 21]。研究表明，小檗碱在调节脂质代谢紊乱，减轻抗胰岛素抵抗，防治 NAFLD 方面效果满意^[6, 22]。本研究结果显示，NAFLD 大鼠广泛存在脂质代谢紊乱，小檗碱能显著改善肝细胞脂质沉积，减轻血清及肝组织脂质代谢紊乱状态；小檗碱组大鼠肝细胞 LXRα、FAS mRNA 及蛋白的表达水平明显下调（*P* < 0.01），小檗碱可能是通过调节 LXRα/FAS 信号通路，起到缓解 NAFLD 大鼠肝细胞脂质沉积、改善脂质紊乱的作用。调节 LXRα/FAS 信号通路缓解 NAFLD 大鼠肝细胞脂质沉积可能是小檗碱发挥作用的重要机制之一。

综上所述，笔者认为小檗碱所具有的清热燥湿属性与湿热证关系密切，由高脂饮食诱导所建立的 NAFLD 实验动物模型可能存在湿热内蕴的病机和临床表现。但小檗碱对于 LXRα/FAS 信号通路下游基因的调节及与其他信号通路如核因子-κB（nuclear

factor-kappa B, NF- κ B) 在 NAFLD 中的相互作用需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Tan TC, Crawford DH, Jaskowski LA, et al. Altered lipid metabolism in Hfe-knockout mice promotes severe NAFLD and early fibrosis[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 301(5): G865-G876.
- [2] Musso G, Gambino R, Cassader M. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. *Prog Lipid Res*, 2009, 48(1): 1-26.
- [3] Higuchi N, Kato M, Shundo Y, et al. Liver X receptor in cooperation with SREBP-1c is a major lipid synthesis regulator in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatol Res*, 2008, 38(11): 1122-1129.
- [4] Yang J, Craddock L, Hong S, et al. AMP-activated protein kinase suppresses LXR-dependent sterol regulatory element-binding protein-1c transcription in rat hepatoma McA-RH7777 cells[J]. *J Cell Biochem*, 2009, 106(3): 414-426.
- [5] 冯高飞, 杨钦河, 张玉佩, 等. 黄连素配合高脂饮食控制对 NAFLD 大鼠肝组织 PPAR α mRNA 及蛋白表达的影响[J]. *中药材*, 2012, 35(04): 629-634.
- [6] Yang QH, Hu SP, Zhang YP, et al. Effect of berberine on expressions of uncoupling protein-2 mRNA and protein in hepatic tissue of non-alcoholic fatty liver disease in rats[J]. *Chin J Integr Med*, 2011, 17(3): 205-211.
- [7] 孟民杰, 杨钦河, 王强, 等. 不同治法方药对大鼠脂肪肝 Kupffer 细胞 ERK1/2 蛋白活性的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(8): 1551-1555.
- [8] 魏波, 杨钦河, 王文晶, 等. 疏肝健脾方对 NASH 大鼠肝组织 IKK β mRNA 和蛋白表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28(8): 1448-1454.
- [9] 冯高飞, 杨钦河, 王文晶, 等. 非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝细胞和库普弗细胞同时分离及鉴定[J]. *广东医学*, 2012, 33(01): 40-43.
- [10] Tessari P, Coracina A, Cosma A, et al. Hepatic lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2009, 19(4): 291-302.
- [11] 陈洁, 郑瑞丹, 徐成润, 等. 大鼠非酒精性脂肪肝病中 LXR- α 和 SREBP-1c 表达及罗格列酮的干预研究[J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29(2): 346-349.
- [12] Nakamuta M, Fujino T, Yada R, et al. Impact of cholesterol metabolism and the LXR α -SREBP-1c pathway on nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Int J Mol Med*, 2009, 23(5): 603-608.
- [13] Zelcer N, Tontonoz P. Liver X receptors as integrators of metabolic and inflammatory signaling[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(3): 607-614.
- [14] Mcfadden JW, Corl BA. Activation of liver X receptor (LXR) enhances de novo fatty acid synthesis in bovine mammary epithelial cells[J]. *J Dairy Sci*, 2010, 93(10): 4651-4658.
- [15] Higuchi N, Kato M, Shundo Y, et al. Liver X receptor in cooperation with SREBP-1c is a major lipid synthesis regulator in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatol Res*, 2008, 38(11): 1122-1129.
- [16] Repa JJ, Liang G, Ou J, et al. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXR α and LXR β [J]. *Genes Dev*, 2000, 14(22): 2819-2830.
- [17] 张玉佩, 杨钦河, 孔怡琳, 等. 从痰瘀角度探讨脂肪肝“二次打击”学说[J]. *新中医*, 2010, 42(10): 11-12.
- [18] 纪桂元, 杨钦河, 谢维宁, 等. 从痰湿探讨胰岛素抵抗致非酒精性脂肪肝的发病机理[J]. *辽宁中医杂志*, 2007, 34(08): 1063-1064.
- [19] 杨钦河, 凌家生, 平换换, 等. 非酒精性脂肪肝的中医药防治思路与对策[J]. *中医杂志*, 2007, 48(8): 746-748.
- [20] 张玉佩, 韩莉, 杨钦河, 等. 黄连素药性与功效刍议[J]. *中国医药科学*, 2012, 2(21): 52-53.
- [21] 曹晏昉, 蔡危威, 张丽莉, 等. 黄连素联合二甲双胍治疗 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝的临床观察[J]. *现代预防医学*, 2012, 39(18): 4885-4886.
- [22] Xing LJ, Zhang L, Liu T, et al. Berberine reducing insulin resistance by up-regulating IRS-2 mRNA expression in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) rat liver[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 668(3): 467-471.

(收稿:2013-09-19 修回:2014-11-17)