

复方楂金颗粒对 NASH 小鼠肝脏内 TLR4 信号通路的影响

刘 静¹ 庄振杰¹ 田 静² 李兆翌² 罗 燕¹ 柳银兰¹
陈建玉¹ 马晓洁¹ 臧淑妃³ 施军平³

摘要 **目的** 观察复方楂金颗粒对高脂高果糖饮食诱导的非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)小鼠肝脏内 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 信号通路影响。**方法** 6 周龄雄性 C3H 品系小鼠 30 只,按体重分层随机分为高脂高果糖组(20 只)和对照组(10 只)。高脂高果糖组用高脂饲料和 20% 果糖饮用水喂养;对照组用普通饲料和普通饮用水喂养。8 周后将高脂高果糖组按体重分层随机分为高脂高果糖组和楂金颗粒组各 10 只,楂金颗粒组用高脂饲料和 20% 果糖饮用水喂养,每天按 50 mL/kg 予 12.8% 的复方楂金颗粒冲剂灌胃(山楂、郁金、泽泻、海藻、象贝、水飞蓟、桃仁按 3:1.5:1.5:2:1.5:2:1 比例制备而成)。余组喂养如前,每天予同体积蒸馏水灌胃,16 周处死小鼠。检测小鼠体重、肝湿重、肝功能及脂代谢指标,采用 HE、油红 O 及 Masson 染色评价小鼠肝脏病理学改变。用免疫组织化学染色和实时荧光定量 PCR 法检测小鼠肝组织 TLR4、髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)表达。**结果** 楂金颗粒组体重、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)明显低于高脂高果糖组($P < 0.05$);油红 O 染色面积、密度较对照组减少;HE 染色显示,楂金颗粒组炎症气球样变较高脂高果糖组减少;Masson 染色阴性;TLR4、MyD88 免疫组化染色阳性率和 mRNA 表达均明显低于高脂高果糖组($P < 0.05$)。**结论** 复方楂金颗粒剂能明显抑制 NASH 小鼠肝脏内 TLR4 信号通路。

关键词 非酒精性脂肪性肝炎;复方楂金颗粒;Toll 样受体 4

Effect of Compound Zhajin Granule on Toll-like Receptor 4 Signaling Pathway in Nonalcoholic Steatohepatitis Mice LIU Jing¹, ZHUANG Zhen-jie¹, TIAN Jing², LI Zhao-yi², LUO Yan¹, LIU Yin-lan¹, CHEN Jian-yu¹, MA Xiao-jie¹, ZANG Shu-fei³, and SHI Jun-ping³ 1 Department of Liver Diseases, Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou (310015); 2 Department of Pharmacy, Xixi Hospital of Hangzhou City, Hangzhou (310014); 3 Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou (310015)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Compound Zhajin Granule (CZG) on Toll-like receptor 4 (TLR4) signaling pathway in high-fructose corn syrup induced NASH mice. **Methods** Thirty 6-week-old male C3H mice were divided into the high fat and high fructose (HFHFr) group ($n = 20$) and the control group ($n = 10$) according to body weight. Mice in the HFHFr group ate high fat diet and drank 20% fructose water, while those in the control group ate common diet and drank common water. After 8 weeks mice in the HFHFr group were divided into two group according to body weight, the HFHFr group and the CZG group, 10 in each group. Mice in the CZG group were fed with high fat forage and 20% fructose water, and administered with 50 mL/kg 12.8% CZG (prepared by hawthorn, *Radix Curcumae*, *Alisma Orientale*, *Fritillaria Thunbergii*, *Silybum Marianum*, peach seed in the ratio of 3:1.5:1.5:2:1.5:2:1) by gastrogavage. Mice in the HFHFr group were fed in the same way and daily administered with equal volume of

资助项目:国家自然科学基金面上项目(No.81070316);浙江省杭州市科技计划项目(No.2006533Q13)

作者单位:1.杭州师范大学附属医院肝病科(杭州 310015);2.浙江省杭州市西溪医院药剂科(杭州 310014);3.杭州师范大学附属医院内分泌科(杭州 310015)

通讯作者:施军平, Tel:13957121199, E-mail:13957121199@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.04.0460

distilled water by gastrogavage. Sixteen weeks later all mice were sacrificed. Body weight, liver wet weight, liver function, and lipid metabolism were detected. Pathological changes of liver tissues were assessed by HE staining, oil red O staining, and Masson staining. Expressions of TLR4, myeloid differentiation factor 88 (MyD88), tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected using immunohistochemical staining and real-time fluorescent quantitative PCR. Results Body weight, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) were obviously lower in the CZG group than in the HFHFr group ($P < 0.05$); oil red O stained area and density were decreased more in the CZG group than in the control group. HE staining showed ballooning inflammation was reduced more in the CZG group than in the HFHFr group. Masson staining was negative. Positive rates of TLR4 and MyD88 and mRNA expressions were significantly lower in the CZG group than in the HFHFr group (all $P < 0.05$). Conclusion CZG could significantly inhibit TLR4 signaling pathway of liver in NASH mice.

KEYWORDS nonalcoholic fatty liver; Compound Zhajin Granule; Toll-like receptor 4

非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)作为单纯性脂肪肝进展为肝硬化的限速步骤和糖尿病、动脉粥样硬化及其他代谢相关恶性肿瘤的重要危险因素近年倍受关注^[1-3]。长期随访研究表明,无论是胰岛素增敏剂还是生活方式的改变仅能使 50% NASH 患者肝组织得到显著改善^[4]。以往研究表明,复方楂金颗粒能清除 NASH 大鼠过多的自由基,保持肝细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生和灭活的平衡,减轻肝细胞脂肪变性和肝脏损伤,明显改善肝组织炎症程度^[5,6]。但其具体的作用机制尚不明确,近年来已证实 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 信号通路介导的 Kupffer 细胞活化在 NASH 炎症启动中起着关键作用^[7]。本实验将从复方楂金颗粒对 NASH 小鼠肝脏内 TLR4 信号通路的影响研究其治疗 NASH 的分子机制,现报告如下。

材料与方法

1 动物及分组 6 周龄雄性 C3H 品系小鼠 30 只购于南京大学国家遗传工程小鼠资源库,合格证号: SCXK(苏)2010-0001,按体重分层随机分到高脂高果糖组(20 只)和对照组(10 只)。

2 药物 复方楂金颗粒:由山楂、郁金、泽泻、海藻、象贝、水飞蓟、桃仁 7 味中药按配比(3:1.5:1.5:2:1.5:2:1)组成,杭州市第六人民医院药物实验室制备。

3 主要试剂 果糖(美国 Amerisco 公司);抗 TLR4 鼠多克隆抗体、抗 MyD88 兔单克隆抗体、羊抗鼠 IgG、羊抗兔 IgG(英国 Abcam 公司);DAB 显色剂(中杉金桥公司);Trizol、逆转录试剂盒、SYBR Green 试剂盒(美国 Invitrogen 公司);引物(生工生

物工程股份有限公司)。

4 主要仪器 日立 7180 全自动生化分析仪(日本日立公司);梅颖浦 524 型磁力搅拌器(上海梅颖浦仪器制造有限公司);ABI prism 7900 HT fast real-time PCR system(德国 Biometra 公司);石蜡切片机(德国 Leica 公司);普通光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

5 方法

5.1 模型建立及给药方法 参照“高脂高果糖饮食诱导非酒精性脂肪性肝炎小鼠模型的建立和鉴定”进行模型的建立及鉴定^[8],高脂高果糖组用高脂饲料(76.5%标准饲料、12%猪油、1%胆固醇、5%蛋黄粉、5%全脂奶粉、0.5%胆酸钠,饮用 20%果糖)和 20%果糖饮用水喂养;对照组用普通饲料和普通饮用水喂养。8 周后将高脂高果糖组按体重分层随机分为高脂高果糖组和楂金颗粒组各 10 只,楂金颗粒组用高脂饲料和 20%果糖饮用水喂养,每天按 50 mL/kg 予 12.8%的复方楂金颗粒冲剂(山楂、郁金、泽泻、海藻、象贝、水飞蓟、桃仁按 3:1.5:1.5:2:1.5:2:1 比例制备而成,100 mL 生理盐水加入复方楂金颗粒 12.8 g)灌胃。其余各组喂养如前,每天予同体积蒸馏水灌胃,16 周处死所有小鼠。

5.2 标本采集 处死小鼠前晚禁食不禁水 12 h,空腹称重和测量身长,次日晨空腹用 3%戊巴比妥钠(0.15 mL/100 g)腹腔注射麻醉,颈椎脱臼法处死小鼠,常规采集血清标本,测量肝脏湿重、肝指数(肝脏湿重/体重),由肝左叶固定部位取材,制备肝脏石蜡切片和冰冻切片标本。

5.3 肝功能(ALT、AST)指标检测 采用日立 7180 全自动生化分析仪测定。

5.4 肝脏普通病理学检查 采用冰冻切片行油

红 O 染色观察肝细胞脂肪变,采用石蜡切片行 HE 染色,观察肝组织炎症活动度和纤维化程度。参照“美国国立卫生研究院 NASH 临床研究网络病理工作组指南”^[9]进行非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 活动度评分 (NAFLD activity score, NAS): (1) 肝脂肪变: <5% 为 0 分, 5% ~ 34% 个为 1 分, 34% + ~ 66% 为 2 分, >66% 为 3 分; (2) 小叶内炎症 (20 倍显微镜下炎症坏死灶个数): 无为 0 分, <2 个为 1 分, 2 ~ 4 个为 2 分, >4 个为 3 分; (3) 气球样变: 无为 0 分, 少见为 1 分, 多见为 2 分。1 ~ 3 项合计: <3 分排除 NASH, 3 ~ 4 分为 NASH 可能, >4 分诊断为 NASH。

5.5 TLR4、MyD88 蛋白表达 采用免疫组化染色。即: (1) 肝组织石蜡切片脱蜡至水; (2) 用高压蒸汽抗原修复 (pH 6.0 柠檬酸缓冲液, 高压锅加压阀出气后 3 min 15 s, 快速冷却); (3) 3% H₂O₂ 封闭内源性过氧化物酶 15 min; (4) 滴加鼠多克隆抗体 TLR4 (1: 100)、兔单克隆抗体 MyD88 (1: 100), 4 ℃ 孵育过夜; (5) PBS 振洗, 滴加羊抗鼠或羊抗兔 (1: 500) 二抗室温 40 min; (6) PBS 振洗, DAB 显色 5 min; (7) 充分水洗后苏木素复染 2 min, 脱水后封片观察阳性标记。以 0.01 mol/L 0.5 mL PBS 代替一抗作为空白对照。用 400 倍显微镜观察。细胞染色强度分级: 0 分为无色者, 1 分为浅黄色者, 2 分为棕黄色者, 3 分为棕褐色; 阳性细胞率分级: 无阳性细胞者记为 0 分, 1% ~ 25% 者记为 1 分, 26% ~ 50% 者记为 2 分, 51% ~ 75% 者记为 3 分, 76% ~ 100% 者记为 4 分。每张切片随机观察 10 个高倍视野 (400 倍), 取其平均值。采用半定量积分结果分级标准: 0 分记为 (-), 2 ~ 3 分记为 (±), 4 ~ 5 分记为 (+), 6 ~ 7 分记为 (++)。

5.6 TLR4、MyD88、TNF-α mRNA 采用 RT-PCR 检测。取肝组织, 提取 RNA, RT 试剂盒逆转录制备 cDNA 并纯化, 以 cDNA 为模板, 优化 PCR 条件, PCR 扩增后并进行电泳鉴定; 采用 RT-PCR 对逆转录 - 扩增产物进行定量分析。用 β-actin 作内参照。内参基因 β-actin 和目标基因 TLR4、MyD88、TNF-α mRNA RT-PCR 反应条件的优化结果从溶解曲线、Ct 值和 ΔRn 综合考虑。扩增倍数计算方法采用 2^{-ΔΔCt} 法, ΔΔCt = 本组测定基因 Ct

值 - (本组平均 Ct 值 - 内参平均 Ct 值)。引物序列详见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列表

基因	引物序列	引物长度 (bp)
Ms TLR4	正: 3'-AATGAGGACTGGGTGAGAAATGAG-5'	24
	反: 3'-AGACACTACCACAATAACCTTCCG-5'	24
Ms MyD88	正: 3'-GACGATTATCTACAGAGCAAGGAATG-5'	26
	反: 3'-CATATAGTGATGAACCGCAGGATAC-5'	25
Ms TNF-α	正: 3'-CCACCACGCTCTTCTGTCTAC-5'	21
	反: 3'-GGCTACAGGCTTGCTCACTCG-5'	20
Ms β-actin	正: 3'-CTGGCTCCTAGCACCATGAA-5'	20
	反: 3'-CGCAGCTCAGTAACAGTCCG-5'	20

6 统计学方法 采用 SPSS13.0 统计软件分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 3 组间均数比较采用方差分析, 两两比较采用 LSD-t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验和 Fisher 确切概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠体重、肝指数、ALT 及 AST 比较 (表 2) 与对照组比较, 高脂高果糖组体重、肝指数、ALT 及 AST 均明显升高 ($P < 0.05$); 植金颗粒组体重亦升高明显 ($P < 0.05$), 肝指数、ALT 及 AST 变化差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与高脂高果糖组比较, 植金颗粒组肝指数、ALT 和 AST 明显降低 ($P < 0.05$)。

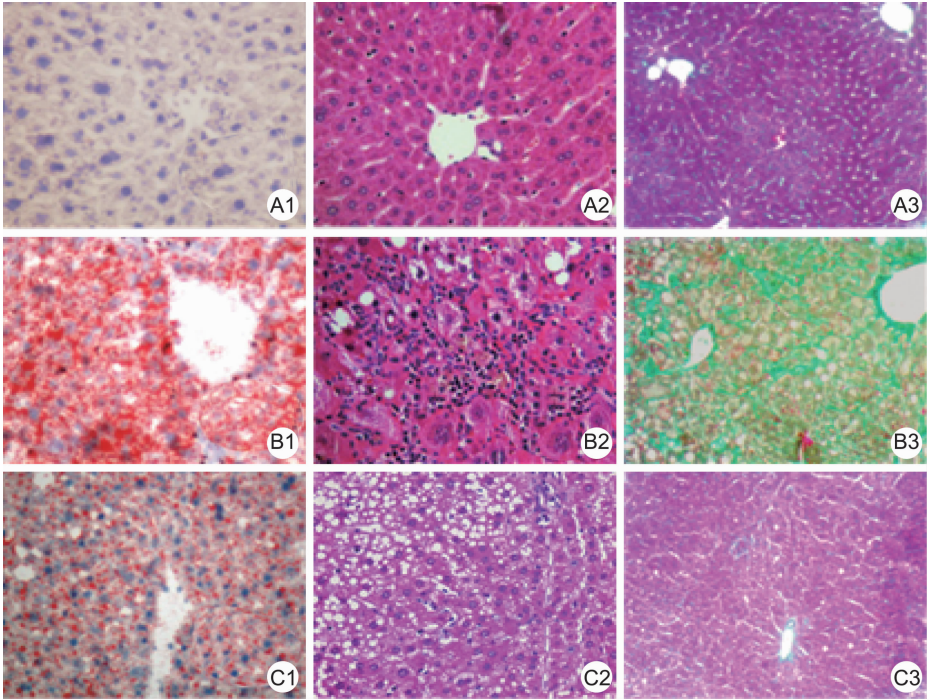
2 3 组病理学结果比较 (图 1) 对照组小鼠肝脏大体观色暗红、质地柔软; 高脂高果糖组和植金颗粒组肝脏颜色不同程度变黄, 质地变韧。油红 O 染色显示: 高脂高果糖组肝脏油红 O 染色面积、密度、染色明显高于植金颗粒组。HE 染色显示: 对照组小鼠肝脏病理无异常发现; 高脂高果糖组出现坏死灶, 肝小叶内明显的炎症细胞浸润, 伴轻微的窦周纤维化, 其中 80% NAS 积分 > 5 分, 且 40% NAS 积分达 8 分; 植金颗粒组脂肪变及气球样变较高脂高果糖组明显减轻, 肝脏 NAS 积分均 < 3 分。Masson 染色显示: 高脂高果糖组 Masson 染色阳性, 植金颗粒组 Masson 染色阴性。对照组 Masson 染色亦为阴性。

3 TLR4 和 MyD88 免疫组化染色结果 (图 2) 高脂高果糖组小鼠 TLR4 和 MyD88 免疫组化染色均

表 2 各组小鼠体重、肝指数、ALT 及 AST 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

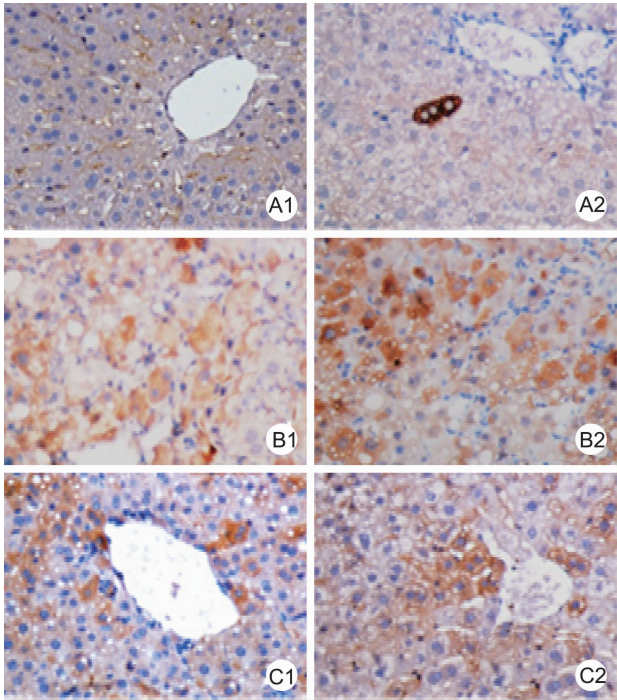
组别	n	体重(g)	肝指数	ALT(U/L)	AST(U/L)
对照	10	25.08 ± 3.90	0.04 ± 0.00	24.70 ± 6.57	132.12 ± 75.43
高脂高果糖	10	33.04 ± 5.99*	0.05 ± 0.01*	108.50 ± 93.34*	316.30 ± 208.98*
植金颗粒	10	29.78 ± 3.75*	0.04 ± 0.00 ^Δ	26.60 ± 5.50 ^Δ	105.90 ± 10.69 ^Δ

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与高脂高果糖组比较, ^Δ $P < 0.05$



注:A 为对照组,其中 A1 为油红 O 染色、A2 为 HE 染色、A3 为 Masson 染色;B 为高脂高果糖组,其中 B1 为油红 O 染色、B2 为 HE 染色、B3 为 Masson 染色;C 为楂金颗粒组,其中 C1 为油红 O 染色、C2 为 HE 染色、C3 为 Masson 染色

图 1 3 组病理学结果 (×400)



注:A 为对照组,其中 A1 为 TLR4 免疫组化染色、A2 为 MyD88 免疫组化染色;B 为高脂高果糖组,其中 B1 为 TLR4 免疫组化染色、B2 为 MyD88 免疫组化染色;C 为楂金颗粒组,其中 C1 为 TLR4 免疫组化染色、C2 为 MyD88 免疫组化染色

图 2 3 组 TLR4、MyD88 免疫组化染色结果 (×400)

有大量阳性表达,细胞质和细胞膜可见棕黄色染色,复方楂金颗粒组 TLR4 和 MyD88 免疫组化的阳性表达率明显少于高脂高果糖组,且 TLR4 以细胞膜棕黄色染色为主,对照组免疫组化可见少量的 TLR4 细胞膜阳性表达和 MyD88 胞质表阳性达。

4 3 组 TLR4、MyD88、TNF-αmRNA 水平比较 (表 3) 高脂高果糖组小鼠 TLR4、MyD88、TNF-α mRNA 表达均明显高于同时点对照组 ($P<0.05$),楂金颗粒组 TLR4、MyD88、TNF-α mRNA 表达均低于高脂高果糖组 ($P<0.05$)。

表 3 3 组 TLR4、MyD88、TNF-αmRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TLR4	MyD88	TNF-α
对照	10	0.75 ± 0.18	1.11 ± 0.21	1.17 ± 0.27
高脂高果糖	10	1.51 ± 0.09 *	1.78 ± 0.31 *	5.16 ± 1.34 *
楂金颗粒	10	1.18 ± 0.25 [△]	1.21 ± 0.29 [△]	1.74 ± 0.40

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与高脂高果糖组比较,[△] $P<0.05$

讨 论

近年研究报道,富含高脂高果糖的现代快餐可导致明显的肝纤维化、炎症、内质网应激及脂肪细胞的凋亡^[10]。果糖在体内代谢生成乙二醛并诱导活性氧增加而导致肝细胞线粒体损伤^[11],也可通过促进肝脏脂

质从头合成、瘦素抵抗、肠源性内毒素生成等参与脂肪肝变和肝病进展过程^[10,12,13]。在联合了果糖饮料(30%)的美式生活方式诱导的小鼠 NASH 模型中,典型的肝组织学和代谢表型则似乎主要来自反式脂肪、活动限制及各因素的协同作用^[13]。本课题在高脂饮食的基础上加 20% 的果糖饮水造模,高脂高果糖饮食的持续刺激 16 周时肝组织出现明显的气球样变、脂肪变、炎症伴轻微的窦周纤维化,肝功能明显受损,血清 ALT、AST、总胆固醇增加伴小鼠明显肥胖,符合 NASH 疾病发展的自然演变过程且具备代谢综合征的主要表型^[8],表明高脂高果糖可协同促进肝脏病变以及代谢表型的发生。这个结果与 Tetri LH 等^[14]报道的美式生活方式诱导的 NASH 小鼠模型相似,但不需活动限制,符合自然病程;可用于 NASH 发病机制及药物疗效方面的研究。

目前由于 NASH 发病机制复杂,现代医学临床治疗相对困难,而中医学认为其属“胁痛”、“积聚”、“痰浊”等范畴。其发生的主要病理因素是痰湿,病理基础以脾胃亏虚为本,气郁、血瘀、痰湿、湿热为标,病位在肝,与肝、脾、肾等密切相关,其病机为脾肾亏虚,肝失疏泄,脾失健运,湿热内蕴,痰浊郁结,气滞血瘀,痰瘀互结,而最终形成湿、痰、瘀、热互结,痹阻肝脏脉络而发为 NAFLD。因此认为理气祛瘀化痰为治疗脂肪肝的基本法则,此法可使肝疏泄趋以正常,令脾气健运,从而起到痰化瘀去、湿浊清除、肝络通畅的作用。在此原则上的中医方剂对 NASH 的治疗取得了较好的临床疗效^[5]。本课题根据临床应用桃仁、郁金、山楂、泽泻、海藻、象贝、水飞蓟等中药治疗 NASH 取得的良好疗效,配置成颗粒剂灌胃小鼠。结果显示,楂金颗粒组脂肪沉积较高脂高果糖组明显较少,炎症气球样变亦明显减少,重要的是高脂高果糖组在 16 周出现了明显的纤维化,而楂金颗粒组未发生纤维化,且 AST、ALT 明显低于高脂高果糖组。方中桃仁活血化痰,山楂消食化积、行气散瘀,郁金行气解郁活血,泽泻、水飞蓟利水渗湿、泄热,海藻理气宽中、化痰,象贝清热化痰、开郁散结,诸药合用,共奏理气化痰祛瘀之功,故取得了预期的良好疗效。

近年来已证实脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)/TLR4 信号通路介导的 Kupffer 细胞活化在 NASH 进展中起着非常重要的作用^[15]。在脂肪肝疾病中,LPS 是关键的外来危险信号。在大多数 NAFLD 实验模型中,循环 LPS 升高,肝脏对 LPS 异常敏感^[16]。NAFLD 与血清 LPS 水平增加有关,而促炎因子的级联活化在疾病进展中起关键作用^[17]。因此,在实验和人

类 NAFLD 中,果糖摄入量增加等饮食因素是肠运动性改变、细菌过度生长、上皮渗透性增加的原因^[16];近来发现增高的营养性脂肪酸水平能激活脂肪细胞和巨噬细胞中的 TLR4 信号通路,进而使天然免疫系统活化,导致肝脏损害。TLR4 缺失时,脂肪酸诱导的炎症信号减弱,这种作用结果与脂肪酸成分密切相关^[15]。饱和脂肪酸能通过 MyD88 依赖和 TRAM 依赖激活脂肪细胞和巨噬细胞中的 TLR4 信号通路,并通过核因子- κ B (nuclear nuclear factor- κ B, NF- κ B) 激酶抑制剂 (IKK) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 激活 NF- κ B 介导炎症反应信号途径;而不饱和脂肪酸能够抑制巨噬细胞 TLR4 信号通路激活^[17]。因此,TLR4 是体内脂肪酸水平和成分改变的感应器,在 NASH 发病中具有重要意义。本课题的结果与此完全相符合,采用高脂高果糖饮食喂养 C3H 品系小鼠 16 周提示 NASH 的发生,TLR4、MyD88 和 TNF- α 蛋白和 mRNA 表达明显高于对照组。采用复方楂金颗粒治疗高脂高果糖饮食喂养 8 周后的 NASH 小鼠,TLR4 信号通路上的关键分子 TLR4、MyD88 的蛋白表达和 TLR4、MyD88、TNF- α mRNA 表达均明显低于高脂高果糖组。因此,复方楂金颗粒治疗 NASH 与其抑制肝脏内 TLR4 信号通路有关,但其具体作用形式还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Lee L, Alloosh M, Saxena R, et al. Nutritional model of steatohepatitis and metabolic syndrome in the Ossabaw miniature swine[J]. Hepatology, 2009, 50(1): 56-67.
- [2] Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease in China[J]. Gastroenterol Hepatol, 2009, 50(1): 204-210.
- [3] Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection[J]. Hepatology, 2010, 51(5): 1820-1832.
- [4] Ratzliff V, Charlotte F, Bernhardt C, et al. Long-term efficacy of rosiglitazone in nonalcoholic steatohepatitis: results of the fatty liver improvement by rosiglitazone therapy extension trial[J]. Hepatology, 2010, 51(2): 445-453.
- [5] 施军平,陈芝芸,何蓓晖,等.理气化痰祛瘀方抗大鼠非酒精性脂肪性肝炎实验研究[J].医学研究杂志, 2006, 35(8): 32-36.
- [6] 蒋艳明,陆璐,钱建成,等.复方楂金颗粒剂对非酒精性脂肪性肝炎大鼠氧化应激的影响[J].中华中医药学刊, 2012, 30(9): 2066-2068.

- [7] Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, et al. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis[J]. J Hepatol, 2007, 47(4): 571-579.
- [8] 刘静,柳银兰,杨文君,等. 高脂高果糖饮食诱导非酒精性脂肪性肝炎小鼠模型的建立和鉴定[J]. 中华肝脏病杂志, 2014, 22(5): 55-60.
- [9] Kleiner DE, Brunt EM, Natta MV, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2005, 41(6): 1313-1321.
- [10] Kohli R, Kirby M, Xanthakos SA, et al. High-fructose medium chain trans fat diet induces liver fibrosis & elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis[J]. Hepatology, 2010, 52(3): 934-944.
- [11] Lee O, Bruce WR, Dong Q, et al. Fructose and carbonyl metabolites as endogenous toxins[J]. Chem Biol Interact, 2009, 178(1-3): 332-339.
- [12] Hebbard L, George J. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2011, 8(3): 34-44.
- [13] Adbelmalek MF, Suzuki A, Cynthia G, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2010, 51(6): 1961-1971.
- [14] Tetri LH, Basaranoglu M, Brunt EM et al. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2008, 295(5): 987-995.
- [15] Baffy G. Kupffer cells in non-alcoholic fatty liver disease: The emerging view[J]. Hepatology, 2009, 51(1): 212-223.
- [16] Thuy S, Ladurner R, Volynets V, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake[J]. J Nutr, 2008, 138(8): 1452-1455.
- [17] Szabo G, Bala S, Petrasek J, et al. Gut-liver axis and sensing microbes[J]. Dig Dis, 2010, 28(6): 737-744.

(收稿:2014-07-04 修回:2015-08-20)

第 7 次全国中西医结合传染病学术会议征文通知

由中国中西医结合学会传染病专业委员会主办的第 7 次全国中西医结合传染病学术会议将于 2016 年 6 月在山东省青岛市召开。现征文要求如下。

征文内容:(1)各种传染病的中西医结合诊疗和实验研究;(2)中医药及中西医结合防治传染病的经验总结;(3)中西医结合传染病的研究方法、思路和发展战略;(4)中医药和中西医结合诊疗传染病的进展和评价;(5)运用多种疗法(如针灸、气功等)、多种给药途径(栓剂、保留灌肠、皮肤给药、器官给药、腧穴给药等)治疗各种传染病的应用和配合研究;(6)各种传染病动物模型、病理机制、检测技术、诊断标准的最新进展及动态;(7)中西医结合传染病学术定位及体系研讨。

稿件要求:在 5 000 字以内,未经正式发表,提供 500 字以内的中文摘要,注明作者姓名、单位、地址、邮编及 E-mail。

投稿方式:广东省深圳市龙岗区布澜路 29 号(邮编 518112) 深圳市第三人民医院 聂广(收), 欢迎通过电子邮件投稿,请发至 zxyjhcrcb@163.com,并注明“会议征文”。

截稿日期:2016 年 5 月 20 日。