

叶下红对实验性肝脂肪变大鼠的保护作用及其分子机制

郑永平 肖亮生 李庆南 胡建凡 郑灿滨 林奕芬

(汕头市中心医院消化科, 广东 汕头 515031)

【摘要】 目的 探讨叶下红对实验性肝脂肪变大鼠的保护作用及其分子机制。**方法** 将 70 只 SD 大鼠按随机数字表法分为正常对照组、模型组、高或低剂量叶下红组及高剂量叶下红 + 磷酸化细胞外调节蛋白激酶 1/2 (pERK1/2) 抑制剂 (PD98059) 组 (PD 组)。正常对照组予以普通饲料; 其余各组予以高脂低蛋白饲料联合 30% 四氯化碳 (CCl₄) 花生油 2 mL/kg 每 3 d 皮下注射 1 次, 连续 3 周制备动物模型。制模后叶下红组以高、低剂量叶下红提取物 (5.0 g/kg 和 2.5 g/kg) 灌胃, 每日 1 次; PD 组每日 1 次灌胃 5.0 g/kg 叶下红提取物后加用 0.3 mg/kg PD98059 每周 1 次尾静脉注射。3 周后均改为普通饲料, 第 5 周末取肝组织进行病理学观察; 用全自动生化分析仪检测血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG) 水平, 采用免疫组化染色、蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot) 及流式细胞术检测固醇调节元件结合蛋白 1 (SREBP-1)、pERK1/2、Toll 样受体 4 (TLR4)、高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 阳性细胞计数及蛋白表达; 用羟胺法及硫代巴比妥酸 (TBA) 法检测肝组织超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 水平。**结果** 高、低剂量叶下红组及 PD 组肝组织小叶炎症较模型组减轻 (分: 1.50 ± 0.53 、 1.80 ± 0.43 、 1.20 ± 0.42 比 2.30 ± 0.48), ALT、AST、TC、TG、SREBP-1、MDA 均较模型组减少, 以高剂量叶下红组最为明显 [ALT (U/L) 为 51.91 ± 6.95 比 66.50 ± 12.15 , AST (U/L) 为 125.70 ± 5.62 比 147.10 ± 10.52 , TC (mmol/L) 为 1.79 ± 1.04 比 2.81 ± 1.08 , TG (mmol/L) 为 0.87 ± 0.55 比 1.17 ± 0.67 , SREBP-1 为 $(30.60 \pm 5.56)\%$ 比 $(53.10 \pm 5.02)\%$, MDA (nmol/mg) 为 5.20 ± 0.87 比 10.61 ± 5.45 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$]; pERK1/2、TLR4、HMGB1 相对表达量与模型组比较差异无统计学意义 [pERK1/2 为 $(43.77 \pm 4.93)\%$ 比 $(46.83 \pm 5.27)\%$, TLR4 (相对荧光强度) 为 69.12 ± 24.64 比 69.08 ± 24.32 , HMGB1 (相对荧光强度) 为 22.93 ± 14.88 比 33.17 ± 13.29 , 均 $P > 0.05$]; 而 PD 组上述各指标值与高剂量叶下红组接近, 说明细胞外调节蛋白激酶 (MEK) 抑制剂对叶下红作用无影响。**结论** 叶下红能减轻实验性肝脂肪变肝损伤程度, 明显减轻肝小叶炎症, 其机制可能与减轻氧化应激反应有关, SREBP-1 可能参与其作用的发挥。

【关键词】 叶下红; 肝脂肪变性; 固醇调节元件结合蛋白 1; 磷酸化细胞外调节蛋白激酶 1/2; Toll 样受体 4; 高迁移率族蛋白 B1; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

Protective effect of emilia sonchifolia on rats with experimental hepatic steatosis and its molecular mechanism

Zheng Yongping, Xiao Liangsheng, Li Qingnan, Hu Jianfan, Zheng Canbin, Lin Yifen. Department of Gastroenterology, Shantou Central Hospital, Shantou 515031, Guangdong, China

Corresponding author: Zheng Canbin, Email: 121079899@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the preventive effects of emilia sonchifolia on experimental hepatic steatosis in rats and its molecular mechanism. **Methods** Seventy Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into five groups: normal control, model, high dose emilia sonchifolia, low dose emilia sonchifolia groups and high dose emilia sonchifolia + phosphorylated extracellular signal regulated protein kinase 1/2 (pERK1/2) inhibitor (PD98059) group (PD group). In normal control group, the rats were fed with normal diet, and in the other four groups, the rats were fed with high fat and low protein diet combined with 30% carbon tetrachloride (CCl₄) peanut oil 2 mL/kg subcutaneous injection, once every 3 days for consecutive 3 weeks to establish animal models with hepatic steatosis. In emilia sonchifolia high and low dose groups, 5.0 g/kg and 2.5 g/kg doses of emilia sonchifolia were given respectively by gavage, once a day. In PD group, after administration of emilia sonchifolia high dose by gavage once a day, additionally PD98059 0.3 mg/kg was injected through a tail vein, once a week. After 3 weeks, all rats were switched to normal diet and treatment continued as before. At the end of the 5th week, liver tissues were taken for pathological analyses. The serum levels of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), total cholesterol (TC), and triglyceride (TG) were determined by automatic biochemical analyzer. The positive cell count and protein expressions of sterol-regulatory element binding protein 1 (SREBP-1), pERK1/2, toll like receptor 4 (TLR4) and high mobility group box-1 protein (HMGB1) were tested by immunohistochemistry, Western Blot and flow cytometry. The levels of superoxide dismutase (SOD) and malonaldehyde (MDA) in liver cell homogenate were detected by hydroxylamine and TBA method. **Results** Compared with the model group, the lobular inflammation in high and low dose emilia sonchifolia

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.06.010

基金项目: 广东省中医药强省科研课题 (20131053)

通讯作者: 郑灿滨, Email: 121079899@qq.com

groups and PD group was attenuated (1.50 ± 0.53 , 1.80 ± 0.43 , 1.20 ± 0.42 vs. 2.30 ± 0.48), and ALT, AST, TC, TG, SREBP-1, and MDA were significantly decreased, the decrease in high dose emilia sonchifolia group being the most significant [ALT (U/L): 51.91 ± 6.95 vs. 66.50 ± 12.15 , AST (U/L): 125.70 ± 5.62 vs. 147.10 ± 10.52 , TC (mmol/L): 1.79 ± 1.04 vs. 2.81 ± 1.08 , TG (mmol/L): 0.87 ± 0.55 vs. 1.17 ± 0.67 , SREBP-1: (30.60 ± 5.56)% vs. (53.10 ± 5.02)%, MDA (nmol/mg): 5.20 ± 0.87 vs. 10.61 ± 5.45 , $P < 0.05$ or $P < 0.01$]; the relative expression levels of pERK1/2, TLR4, and HMGB1 showed no statistically significant differences between each treated group and the model group [pERK1/2: (43.77 ± 4.93)% vs. (46.83 ± 5.27)%, TLR4 (rmfi): 69.12 ± 24.64 vs. 69.08 ± 24.32 , HMGB1 (rmfi): 22.93 ± 14.88 vs. 33.17 ± 13.29 , all $P > 0.05$]. While the above index values in PD group were close to those in high dose emilia sonchifolia group, showing that PD98059 had no impact on emilia sonchifolia's action. **Conclusions** Emilia sonchifolia can alleviate hepatic injury and attenuate lobular inflammation in rat experimental hepatic steatosis. Its mechanism is possibly related to the reduction of oxidative stress reaction, and SREBP-1 may be as a mediator involved in the action.

【Key words】 Emilia sonchifolia; Hepatic steatosis; Sterol-regulatory element binding protein 1; Phosphorylated extracellular signal regulated protein kinase 1/2; Toll like receptor 4; High mobility group box-1 protein; Superoxide dismutase; Malonaldehyde

叶下红为潮汕地区常用草药,在民间应用于治疗肝炎、肾炎等。我们在临床应用过程中观察到叶下红治疗肝炎疗效不甚确切,但对防治肝炎后脂肪肝有一定作用,因此推测其可能有改善肝组织脂肪变性、减轻炎症反应、阻断脂肪肝进展的作用。本研究通过复制脂肪肝大鼠模型,观察叶下红对实验性肝脂肪变性的保护作用,并初步探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及材料:选择 SD 大鼠 70 只,雌雄各半,体质量(200 ± 10)g,由汕头大学医学院动物中心提供,动物合格证号:44005100000041,在汕头大学动物中心无特定病原级(SPF)大鼠动物房饲养。

实验材料:磷酸化细胞外调节蛋白激酶 1/2 抑制剂(PD98059)购自美国 Gene Operation 公司,叶下红购自广东天诚中药饮片有限公司,固醇调节元件结合蛋白 1(SREBP-1)抗体购自美国 Santa Cruz 公司,磷酸化细胞外调节蛋白激酶 1/2(pERK1/2)抗体购自重庆 AYABIO 生物技术有限公司, Toll 样受体 4(TLR4)及高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)试剂购自美国 eBioscience 公司,超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒购自南京建成生物工程有限公司。

1.2 叶下红提取液的制备:435.5 g 干燥叶下红全草切碎后加入 5 L 水,煮沸 2 h 过滤;再加入 3.5 L 水,煮沸 1.5 h 过滤,合并两次的滤液,并水浴浓缩得到黑色稠膏状物即为水提物,冰箱中保存备用。1 g 水提物含 1.75 g 生药。

1.3 动物分组:将 70 只大鼠按随机数字表法分为正常对照组、模型组、高或低剂量叶下红组和高剂量叶下红 + PD98059 组(PD 组)。

1.4 给药方式:正常对照组给予普通饲料喂养,其余各组给予高脂低蛋白饲料(79.5% 玉米面为饲料,

加 0.5% 胆固醇及 20% 猪油),同时每 3 d 皮下注射 1 次 30% 四氯化碳(CCl_4)花生油溶液(2 mL/kg),共 3 周。从制模开始,高剂量叶下红组给予叶下红水提取物含生药 5.0 g/kg,低剂量叶下红组给予叶下红水提取物含生药 2.5 g/kg,每日 1 次;PD 组在高剂量组给药基础上每周尾静脉注射 PD98059 0.3 mg/kg,共 3 周,第 4 周开始。所有大鼠给予普通饲料喂养,并继续按实验方案分别给予相应干预。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 血清生化指标测定及肝组织病理学观察:从制模第 2 周末开始每隔 1 周各组处死 1 只大鼠行肝组织病理学观察,了解肝脂肪变程度(制模期间模型组死亡 1 只)。第 5 周末各组病理肝脂肪变性 30% 以上后,处死各组剩余 10 只大鼠,门静脉采血用全自动生化分析仪检测血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)水平。摘取肝脏取肝组织,苏木素-伊红(HE)染色及油红 O 染色,根据非酒精性脂肪肝变(NAFLD)活动度积分(NAS)评估肝组织的病理学改变。

1.5.2 免疫组化染色检测 SREBP-1 和 pERK1/2 的表达水平:采用 PV-6001 免疫组化法对组织切片进行染色,阳性表达为肝细胞胞质和(或)胞核内出现棕黄色着色,每份切片标本光镜下随机观测 10 个高倍视野($\times 200$),计数每 1000 个肝细胞中的 SREBP-1、pERK1/2 阳性细胞数目,计算其中阳性细胞的百分率值。

1.5.3 流式细胞仪检测外周血单个核细胞 TLR4、HMGB1 蛋白水平:计数每 1000 个肝细胞中阳性细胞数目,计算百分率。密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,各组分别加入标记抗体,破膜,流式细胞仪上样分析 TLR4、HMGB1 蛋白水平。蛋白相对含量=(样品蛋白表达的平均荧光强度-对照样品

平均荧光强度)/对照样品平均荧光强度。

1.5.4 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测肝组织中 pERK1/2 的蛋白表达:操作按试剂盒说明书要求进行,以 pERK1/2 与三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)条带的吸光度(A)值比值表示该样本中 pERK1/2 的相对表达量。

1.5.5 肝组织匀浆超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平检测:采用羟胺法和硫代巴比妥酸(TBA)法测定肝组织 SOD、MDA 水平,试剂盒由南京建成生物工程有限公司生产,操作严格按试剂盒说明书进行。

1.6 统计学处理:使用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)的表示,组间比较采用单因素方差分析和 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝组织病理学观察(图 1~2;表 1):正常对照组肝细胞结构正常;模型组肝细胞脂肪变性均超过 30%,以小叶中央区受累突出,肝细胞肿胀,胞质疏松,脂滴空泡散在分布,部分相互融合成大泡。油红 O 染色显示正常对照组大鼠肝细胞核蓝染,无明显红染脂滴颗粒;模型组红染脂滴颗粒满布视野,可见大量红色类圆形脂滴,部分融合集成片状分布;叶下红干预组脂肪变性、小叶炎症、肝细胞气球样变

均较模型组有一定的减轻。在 NAS 积分 3 项指标中,高、低剂量叶下红组小叶炎症较模型组减轻(均 $P < 0.05$),而各组肝脂肪变性、气球样变差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。肝组织油红 O 染色结果显示,各叶下红干预组脂滴颗粒红染的情况较模型组有所减少。

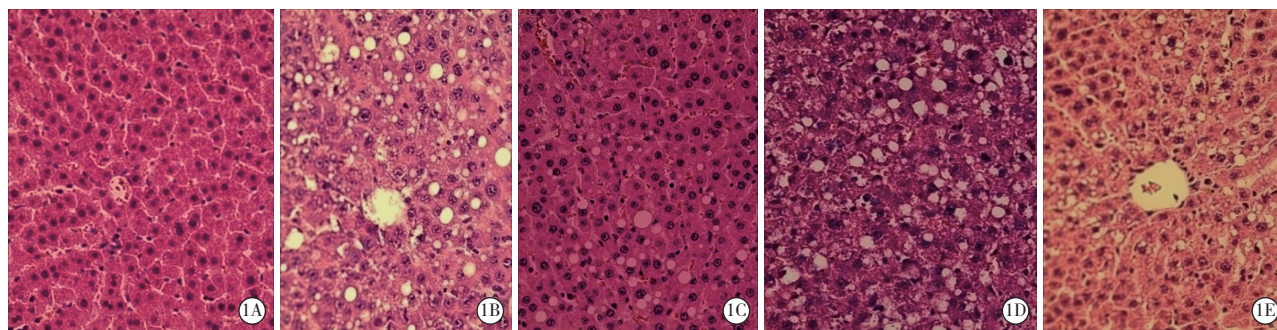
表 1 各组大鼠肝组织 NAS 积分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	肝脂肪变性 (分)	小叶炎症 (分)	气球样变 (分)
模型组	10	2.40 $\pm$ 0.52	2.30 $\pm$ 0.48	1.40 $\pm$ 0.52
高剂量叶下红组	10	1.90 $\pm$ 0.57	1.50 $\pm$ 0.53 ^a	1.00 $\pm$ 0.47
低剂量叶下红组	10	2.20 $\pm$ 0.63	1.80 $\pm$ 0.43 ^a	1.10 $\pm$ 0.32
PD 组	10	1.80 $\pm$ 0.63	1.20 $\pm$ 0.42 ^a	1.20 $\pm$ 0.42

注:与模型组比较,^a $P < 0.05$

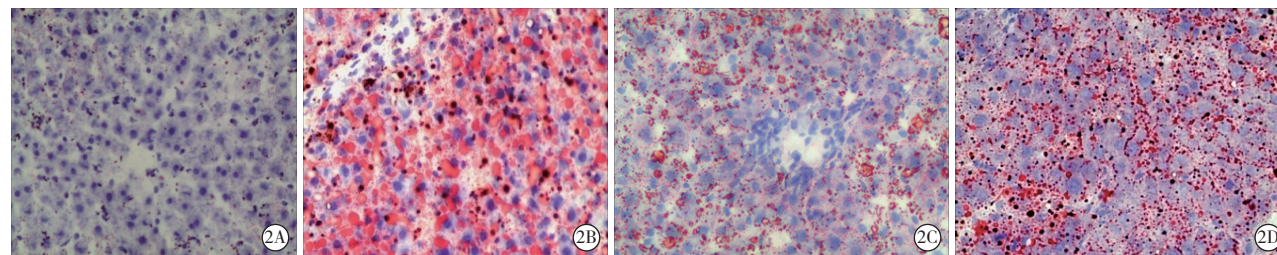
2.2 各组血清生化指标的比较(表 2):模型组血清 ALT、AST 和 TC 水平均较正常对照组明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);高剂量叶下红组、PD 组 ALT、AST 和 TC 水平较模型组明显降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),低剂量叶下红组 AST、TC 较模型组降低,ALT 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 各组 SREBP-1、pERK1/2 蛋白表达水平比较(表 2;图 3):模型组 SREBP-1 和 pERK1/2 蛋白表达水平较正常对照组明显增加($P < 0.01$);高、低剂



A: 正常对照组; B: 模型组; C: 高剂量叶下红组; D: 低剂量叶下红组; E: PD 组

图 1 第 5 周末各组大鼠肝脏组织病理学观察(HE 染色 中倍放大)



A: 正常对照组; B: 模型组; C: 高剂量叶下红组; D: 低剂量叶下红组

图 2 第 5 周末各组大鼠肝脏组织病理学观察(油红 O 染色 中倍放大)

表 2 各组大鼠血清 ALT、AST、TC、TG 水平及 SREBP-1 和 pERK1/2 的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	ALT (U/L)	AST (U/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	SREBP-1 (%)	pERK1/2 (%)
正常对照组	10	40.90 ± 6.15	103.20 ± 4.80	1.48 ± 0.91	0.81 ± 0.25	6.601 ± 1.43	9.97 ± 2.25
模型组	10	66.50 ± 12.15 ^a	147.10 ± 10.52 ^a	2.81 ± 1.08 ^a	1.17 ± 0.67	53.10 ± 5.02 ^a	46.83 ± 5.27 ^a
高剂量叶下红组	10	51.91 ± 6.95 ^b	125.70 ± 5.62 ^b	1.79 ± 1.04 ^c	0.87 ± 0.55	30.60 ± 5.56 ^c	43.77 ± 4.93
低剂量叶下红组	10	59.80 ± 9.41	139.50 ± 4.35 ^c	1.94 ± 0.73 ^c	0.97 ± 0.63	49.00 ± 5.12 ^c	45.67 ± 4.70
PD 组	10	50.50 ± 7.28 ^b	126.20 ± 8.20 ^b	1.81 ± 1.01 ^c	0.84 ± 0.48	30.70 ± 3.28 ^c	15.13 ± 2.86 ^c

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$

表 3 各组肝组织 pERK1/2、外周血 TLR4、HMGB1 及肝组织匀浆 MDA 和 SOD 水平比较

组别	pERK1 蛋白(A 值)	pERK2 蛋白(A 值)	TLR4 (rmfi)	HMGB1 (rmfi)	SOD (kU/L)	MDA (nmol/mg)
正常对照组	0.82 ± 0.32 (6)	0.65 ± 0.62 (6)	31.87 ± 32.25 (6)	10.60 ± 6.90 (6)	302.77 ± 42.48 (10)	3.47 ± 1.82 (10)
模型组	1.14 ± 1.26 (6) ^a	1.30 ± 0.49 (6) ^a	69.08 ± 24.32 (6) ^a	33.17 ± 13.29 (6) ^a	254.17 ± 127.46 (10)	10.61 ± 5.45 (10) ^a
高剂量叶下红组	0.94 ± 1.25 (6)	1.43 ± 0.15 (6)	69.12 ± 24.64 (6)	22.93 ± 14.88 (6)	287.19 ± 38.85 (10)	5.20 ± 0.87 (10) ^b

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;括号内为动物数

量叶下红组和 PD 组 SREBP-1 均较模型组明显下调(均 $P < 0.05$),而 pERK1/2 除 PD 组表达下调外,高、低剂量叶下红组与模型组比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

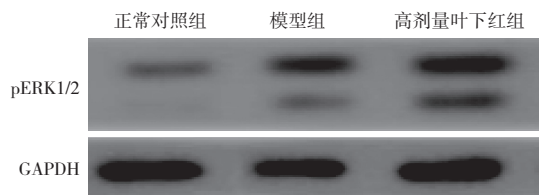


图 3 Western Blot 检测各组 pERK1/2 蛋白表达水平

2.4 各组外周血单个核细胞 TLR4、HMGB1 的表达水平比较(表 3):模型组 TLR4、HMGB1 水平均显著高于正常对照组(均 $P < 0.05$),高剂量叶下红组与模型组比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.5 各组肝组织匀浆中 SOD、MDA 水平的比较(表 3):模型组 SOD 活性降低,叶下红干预后有所升高,但各组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。模型组 MDA 含量较正常对照组明显增加,叶下红干预后 MDA 含量下降($P < 0.05$)。

3 讨论

NAFLD 的发病率逐年增加^[1],NAFLD 涵盖了从单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)到肝纤维化和肝硬化的疾病谱^[2]。NAFLD 病因尚未明确,迄今为止,最广为接受的经典理论是 Day 和 James 提出的“二次打击”假说,该假说认为首次打击主要与缺血/再灌注(IR)有关,而“二次打击”由氧化应激和脂质过氧化等因素构成。最新提出的

“多点打击理论”的观点认为,从 NAFLD 到 NASH 的进展与宿主基因、环境因素、肠道维生素及宿主免疫紊乱有关^[3]。一般认为单纯性脂肪肝预后良好,但脂肪性肝炎可发展为肝纤维化甚至肝硬化,关键是阻断从单纯性脂肪肝向脂肪性肝炎的进展。

由于目前缺乏治疗脂肪肝的有效手段,中草药治疗的研究成为热点。已有文献报道中草药成分对肝损伤有保护作用^[4]。贾程之^[5]的研究结果表明,自拟降脂平肝汤对 NAFLD 患者能起到降脂保肝效果。丁良等^[6]发现酢浆草总提取物对大鼠酒精性肝病有一定的治疗作用。叶下红在民间常用于治疗肝炎、肾炎等,已有研究报道显示叶下红具有清热解毒、散瘀消肿的功效^[7];现代药理学研究也显示,叶下红有抗炎、减少自由基产生、抗氧化、抑菌等多种作用^[8-9]。我们在临床应用过程中观察到,叶下红对肝炎治疗效果不甚确切,但对肝炎后脂肪肝有一定预防作用,故推测其可能通过减轻炎症反应,进而阻断脂肪肝的进展。本研究通过建立脂肪肝动物模型,观察叶下红对脂肪肝的作用并探讨其可能的分子机制。

NAFLD 制模方法多样^[10]。本实验采用 CCl₄ 和高脂饲料复合诱导 NAFLD 的制模方法,该方法已被证实在大鼠、小鼠及兔等啮齿类动物中均可造成肝脂肪变性,且制模时间短、模型相对稳定、重复性好^[11]。本组大鼠制模 3 周后,病理学结果显示肝脂肪变性程度都达 30% 以上。本实验采用叶下红高、低不同剂量的干预方法,结果发现,与正常对照组比较,叶下红干预组肝功能损伤、肝脂肪变性程度,肝组织小叶炎症均有所改善,尤以肝组织小叶炎症减

轻最为显著,其能否阻断从单纯性脂肪肝向脂肪性肝炎的进展值得进一步深入研究。

本研究采用免疫组化、流式细胞技术及 Western Blot 等检测炎症指标及分子信号通路蛋白表达,同时测定了氧化应激指标来初步探讨叶下红作用的分子机制。结果发现叶下红能明显降低 MDA,升高 SOD 水平,显示其可能通过减轻氧化应激反应起作用。TLR4 是 Toll 受体家族成员之一,有些中草药可对该通路产生影响,TLR4 是细菌脂多糖(LPS)的受体,LPS 可导致其活化,并进一步活化巨噬细胞^[12]。有研究发现大承气汤对脓毒症大鼠肝脏 TLR4 可产生影响,从而对肝脏起一定的保护作用^[13]。

细胞外调节蛋白激酶(ERK)包括 ERK1 和 ERK2,二者是分子质量分别为 44 000 和 42 000 的亚单位,两者同源性可达 90%,并以磷酸化的方式激活。陈娟等^[14]研究发现其介导和调控了氧化应激反应;还有研究报道 SREBP-1 及 HMGB1 与脂肪肝发病有关^[15]。本研究对以上信号通路进行研究,结果发现,模型组 SREBP-1、pERK1/2、HMGB1 的表达水平均较正常对照明显升高,与其他研究结果^[16]一致。但本研究结果只发现叶下红对 SREBP-1 的表达产生影响,而对 pERK1/2、HMGB1 及 TLR4 表达无明显影响。PD98059 是 ERK 特异性抑制剂,通过与 ERK1/2 结合阻止其进一步磷酸化,从而抑制其下游的 ERK1/2 磷酸化而阻断细胞信号转导^[17],该通路被阻断后,可推测干预措施是否经过该通路介导。本实验结果发现,阻断该通路后对叶下红的作用未产生明显影响,说明 ERK 通路可能无叶下红作用的介导。由于本组 Western Blot 及流式细胞仪测定入组样本少,有待进一步研究明确。

综上所述,本实验结果发现叶下红能减轻实验性肝脂肪变肝损伤、明显减轻肝组织小叶炎症,其机制可能与减轻氧化应激反应有关,SREBP-1 可能参与其作用的介导。

参考文献

[1] Wu SJ, Zhu GQ, Ye BZ, et al. Association between sex-specific

serum uric acid and non-alcoholic fatty liver disease in Chinese adults: a large population-based study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94 (17): e802.

- [2] Sharma M, Mitnala S, Vishnubhotla RK, et al. The Riddle of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Progression From Nonalcoholic Fatty Liver to Nonalcoholic Steatohepatitis [J]. *J Clin Exp Hepatol*, 2015, 5(2): 147-158.
- [3] Wree A, Broderick L, Canbay A, et al. From NAFLD to NASH to cirrhosis—new insights into disease mechanisms [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10(11): 627-636.
- [4] 陶珮,尹海燕,马永辉.姜黄素对脓毒症大鼠肝细胞线粒体膜通透性转换的作用机制研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26(9): 666-670.
- [5] 贾程之.降脂平肝汤对非酒精性脂肪性肝病患者降脂保肝作用的临床观察[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2012, 19(1): 26-28.
- [6] 丁良,张丽娜,党志勇,等.酢浆草总提取物对大鼠酒精性肝病疗效的实验观察[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2013, 20(5): 257-260.
- [7] 鲁俊华,陈月圆,黄荣韶,等.红背叶提取物的体外抗氧化活性[J]. *广西植物*, 2011, 31(1): 134-138.
- [8] 张玉军,钟正贤,陈敬民,等.一点红提取物的一般药理作用观察[J]. *中成药*, 2011, 33(7): 1238-1241.
- [9] Nworu CS, Akah PA, Okoye FB, et al. Inhibition of pro-inflammatory cytokines and inducible nitric oxide by extract of *Emilia sonchifolia* L. aerial parts [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2012, 34(6): 925-931.
- [10] 聂山文,赵文霞,石艳芬,等.高脂饲料联合四环素腹腔注射复制非酒精性脂肪肝大鼠模型的实验研究[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2013, 20(6): 374-375.
- [11] 邹强,王滨,高志芹,等.适于影像学定量诊断研究的脂肪肝动物模型的建立[J]. *临床放射学杂志*, 2000, 19(11): 727-729.
- [12] 李旭,刘一娜,马晓春.肝素通过 Toll 样受体 4 减少脂多糖刺激人上皮细胞粒细胞集落刺激因子的表达[J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27(2): 81-85.
- [13] 吴嘉骏,赵冰,苏文利,等.大承气汤对脓毒症大鼠肝脏 Toll 样受体 4 表达的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2010, 17(5): 285-287.
- [14] 陈娟,许峰,蒋静,等.氧化应激状态下肺泡 II 型上皮细胞凋亡及细胞外信号调节激酶信号转导机制的研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2007, 19(4): 193-196.
- [15] Hao Q, Hansen JB, Petersen RK, et al. ADD1/SREBP1c activates the PGC1- α promoter in brown adipocytes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1801(4): 421-429.
- [16] Li L, Chen L, Hu L, et al. Nuclear factor high-mobility group box1 mediating the activation of Toll-like receptor 4 signaling in hepatocytes in the early stage of nonalcoholic fatty liver disease in mice [J]. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1620-1630.
- [17] Lee SJ, Lee WJ, Chang SE, et al. Antimelanogenic effect of ginsenoside Rg3 through extracellular signal-regulated kinase-mediated inhibition of microphthalmia-associated transcription factor [J]. *J Ginseng Res*, 2015, 39(3): 238-242.

(收稿日期: 2015-09-19)

(本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊对时间表示方法的有关要求

论文中时间作为单位修饰词仅为数字时,天(日)用“d”,小时用“h”,分钟用“min”,秒用“s”。例如:观察患者 28 d 病死率、离心 10 min 等。论文中时间为非单位时可用天、小时、分钟、秒。例如:在描述第 $\times$ 天、第 $\times$ 小时、第 $\times$ 分钟或每天、每小时、每分钟等时,均用汉字。