

# 祛湿化痰方通过调节 AMPK 活性改善高脂饮食诱导的实验性脂肪肝肝脏脂肪代谢

冯琴 孟胜喜 唐亚军 李晓飞 彭景华 赵瑜 胡义扬

(上海中医药大学附属曙光医院,上海中医药大学肝病研究所,上海高校中医内科学 E-研究院,

教育部肝肾疾病病证实验室,上海市中医临床重点实验室,上海,201203)

**摘要** 目的:研究祛湿化痰方对高脂饮食诱导的大鼠脂肪肝 AMPK 蛋白活性及其相关脂肪代谢靶蛋白活性的影响,以探讨该方防治实验性脂肪肝的作用机制。方法:采用高脂饲料饮食诱导大鼠脂肪肝模型,造模大鼠给予高脂饮食 4 周后,按随机数字表随机分为模型组及祛湿化痰方组,分别灌胃给予饮用水及中药祛湿化痰方 4 周。实验 8 周末取材后观察:1) 肝组织三酰甘油(Triglyceride, TG)、游离脂肪酸(Free Fatty Acid, FFA)含量,2) 肝组织病理变化(HE 染色、油红染色),3) 肝组织腺苷酸活化的蛋白激酶(AMP-Activated K inase, AMPK)及磷酸化 AMPK、肝组织总蛋白及核蛋白固醇调节元件结合蛋白-1c(Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c, SREBP-1c)、肝组织总蛋白及核蛋白碳水化合物反应元件结合蛋白(Carbohydrate Response Element Binding Protein, ChREBP)含量、肝组织乙酰辅酶 A 羧化酶(Acetyl CoA Carboxylase, ACCase)及磷酸化 ACC 蛋白含量,4) 肝组织 AMPK $\alpha$ 1、AMPK $\alpha$ 2、SREBP-1、ACC $\alpha$ 、SREBP-1c 及 ChREBP 基因表达水平。结果:1) 模型组肝组织 TG、FFA 含量显著升高,肝组织出现明显大泡样脂肪变性;模型组肝组织 AMPK 蛋白磷酸化水平降低,核蛋白 SREBP-1 与 ChREBP 表达增加、ACC 蛋白磷酸化水平降低蛋白活性升高。2) 祛湿化痰方组肝组织 TG、FFA 含量较模型组显著降低,肝组织炎症及脂肪变性程度减轻;祛湿化痰方能显著升高肝组织 AMPK、ACC 蛋白磷酸化水平、降低核蛋白 SREBP-1 及 ChREBP 含量。结论:祛湿化痰方通过调节 AMPK 活性及其相关靶蛋白活性改善高脂饮食诱导的大鼠脂肪肝脂肪代谢,这可能是该方有效防治实验性脂肪肝的重要作用机制之一。

**关键词** 实验性脂肪肝;腺苷酸活化蛋白激酶;祛湿化痰方;肝脂肪代谢

## Qushi Huayu Decoction Inhibits Hepatic Lipid Accumulation by Activating AMP-Activated Protein Kinase in Experimental Fatty Liver of Rats

Feng Qin, Meng Shengxi, Tang Yajun, Li Xiaofei, Peng Jinghua, Zhao Yu, Hu Yiyang

(Institute of Liver Diseases, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**Abstract Objective:** The present study was conducted to investigate whether Qushi Huayu Decoction (QHD) could inhibit hepatic lipid accumulation by activating AMP-activated protein kinase (AMPK) in experimental fatty liver of rats. **Methods:** Non-alcoholic fatty liver (NAFL) model was duplicated with high-fat diet in rats. **Results:** QHD significantly decreased the accumulation of fatty droplets in livers, lowered triglyceride (TG) and free fatty acid (FFA). Moreover, QHD supplementation reversed the HFD-induced decrease in the phosphorylation levels of AMPK and acetyl-CoA carboxylase (ACC) and decreased hepatic nuclear protein expression of sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) and carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP) in the liver. **Conclusion:** QHD has significant effect on inhibiting hepatic lipid accumulation via AMPK pathway in vivo.

**Key Words** Experimental fatty liver; AMP-activated protein kinase (AMPK); Qushi Huayu Decoction; Hepatic lipid metabolism

中图分类号:R256.49 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.02.002

肝脏脂肪代谢功能障碍,肝细胞内三酰甘油(Triglyceride, TG)含量过度升高是非酒精性脂肪肝(Nonalcoholic Fatty Liver, NAFL)最基本的病理改变<sup>[1]</sup>。前期研究反复证实了祛湿化痰方对实验性 NAFL 大鼠肝组织三酰甘油和 FFA 降低效应显

著<sup>[2-4]</sup>。单磷酸腺苷(AMP)激活的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)作为一类重要的蛋白激酶,在 NAFLD 的发病过程中起重要作用。AMPK 由于广泛介导了机体主要糖脂代谢组织的调控过程,成了目前代谢性疾病的研究热点,也是目前研究

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:81374031,81173404);上海市自然科学基金项目(编号:13ZR1442600)

作者简介:冯琴(1977—),女,博士,副研究员,主要从事中医药防治慢性肝病的研究,地址:上海市浦东新区张衡路 528 号曙光医院肝病研究所,邮编:201203,电话:(021)20256526, E-mail: fengqin1227@163.com

治疗 NAFLD 药物作用靶点之一<sup>[5]</sup>。本研究围绕 AMPK 活性及受其调节的与脂肪代谢相关靶蛋白活性,运用高脂饮食诱导的大鼠脂肪肝体内模型探讨祛湿化痰方降低 NAFL 肝脂肪含量改善脂质代谢的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物 SD 雄性大鼠 30 只,体重(170 ± 20)g,清洁级,购自中国科学院上海实验动物中心,合格证号:SCXK(沪)2003-0002。上海中医药大学实验动物中心清洁级动物房饲养、造模与观察,自由饮水。

1.2 主要试剂 TG 试剂盒,浙江东欧生物工程公司, Lot No. 2009. 11. 0003; 游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 试剂盒,南京建成生物有限公司, Lot No. 20100409; BCA 蛋白浓度测定试剂盒, Lot No. P0012; RNA 抽提试剂盒, Lot No. 2608A, 购自上海华舜生物工程有限公司; 核蛋白提取试剂盒 (Cyttoplasmic and Nuclear Protein Extraction Kit), Fermentas 产品, Lot: 00069231; 多克隆 AMPKα 抗体、多克隆 p-AMPKα (Thr172)、p-ACC (Ser79) 抗体及多克隆 ACC 抗体均为 Cell Signaling Technology 公司产品; 多克隆 SREBP-1 抗体、多克隆 CHREBP 抗体为 Abcam 公司产品; 单克隆 α-Tubulin 抗体为 EPITMICS 公司产品。多克隆 Lamin B 抗体为 Santa Cruze 公司产品; RNA 抽提试剂盒, Cat No. W6701, Lot No. 2608A, 购自上海华舜生物工程有限公司; cDNA 合成试剂盒, Lot No. 1310, Fermentas 公司产品; 荧光定量 PCR 试剂盒, Lot No. BK4402, TAKARA 公司产品; PCR 引物由 TAKARA 公司设计、上海生工生物工程技术有限公司合成。引物序列及片段长度如下(表 1)。

表 1 体内实验目的基因引物序列及片段长度

Table with 4 columns: Gene Name, GENE BANK ACC, Sequence (5'to3'), and Amplicon Product (bp). Rows include AMPKα1, AMPKα2, SREBP-1, CHREBP, ACCα, and GAPDH.

1.3 实验药物 祛湿化痰方组成: 茵陈 15 g、虎杖 12 g、田基黄 12 g、姜黄 9 g、生栀子 9 g, 均购自上海

华宇药业有限公司。栀子、田基黄水提醇沉, 茵陈、姜黄、虎杖醇提, 配成 0.93 g 生药/mL 浓度用以灌胃给药。

1.4 模型制备方法 大鼠饲以高脂饲料(88% 普通饲料 + 2% 胆固醇 + 10% 猪油)8 周。饲料购自上海斯莱克实验动物有限公司。

1.5 动物分组和给药 SD 雄性大鼠 30 只, 按计算机随机数字表分为正常组 10 只、造模组 20 只, 造模大鼠给予高脂饲料造模四周后, 随机分为模型组、祛湿化痰方治疗组各 10 只。继续给予高脂饲料造模同时, 治疗组灌服祛湿化痰方药液(0.93 g 生药/100 g 鼠重), 模型组给予相应量的生理盐水灌胃, 共给药 4 周。

1.6 统计处理 所有数据均使用 SPSS 13.0 软件包进行统计学分析, 计量资料均写成平均数 ± 标准差(x̄ ± s)形式, 组间比较使用 t 检验。

2 结果

2.1 祛湿化痰方对 NAFL 模型大鼠肝脏脂肪含量的影响 与正常组相比, 模型组大鼠肝组织 TG、FFA 含量均显著升高(P < 0.01, P < 0.01), 祛湿化痰方有很显著的降低组织 TG、FFA 的作用(P < 0.01, P < 0.05), 祛湿化痰方组肝组织 TG、FFA 含量分别为模型组的 53.4%、65.9%。(见表 2)。

表 2 各组大鼠肝组织脂肪含量(x̄ ± s)

Table with 4 columns: Group, Number of Rats, Liver TG (mg/g), Liver FFA (μmol/g prot). Rows include Normal, Model, and祛湿化痰方组.

注: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, vs 模型组。

2.2 祛湿化痰方对 NAFL 模型大鼠肝组织病理的影响 HE 染色显示: 模型组大鼠均出现不同程度的脂肪变性及空泡样变, 变性的肝细胞极度肿胀呈圆形, 体积较正常明显增大, 胞浆内充满大量脂肪空泡, 部分细胞可见细胞核挤向胞膜。肝小叶内可见多处的点状坏死灶, 坏死区及少量汇管区有炎细胞浸润。祛湿化痰方组大鼠脂肪变性程度及细胞肿胀明显减轻, 胞内脂滴数量相对减少, 炎性细胞浸润及坏死灶较模型组减少。油红 O 染色显示与正常大鼠相比模型大鼠肝细胞明显肿大、变圆, 胞内呈现深浅不等的油红着色, 中央静脉周围的肝细胞油红着色较深。祛湿化痰方组肝细胞肿大程度与胞内脂肪油红着色程度都比模型组相对浅。(图略)

依据非酒精性脂肪性肝病诊疗指南<sup>[6]</sup>, 组织病理学诊断将肝细胞脂肪变性分为 4 度(F0-4): F0, <

5% 肝细胞脂肪变; F<sub>1</sub>, 5% ~ 30% 肝细胞脂肪变; F<sub>2</sub>, 30% ~ 50% 肝细胞脂肪变性; F<sub>3</sub>, 50% ~ 75% 肝细胞脂肪变; F<sub>4</sub>, 75% 以上肝细胞脂肪变。Ridit 分析结果显示: 模型组脂肪变性程度较正常组显著升高 ( $P < 0.01$ ), 祛湿化痰方组脂肪变性程度较模型组显著降低 ( $P < 0.05$ ) (见表 3)。

表 3 各组肝组织病理 HE 染色脂肪变性比较

组别	鼠数	脂肪变性分度				
		F <sub>0</sub>	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>
正常组	10	10	0	0	0	0
模型组**	10	0	0	3	6	1
祛湿化痰方组 <sup>△</sup>	10	0	3	5	2	0

注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , vs 正常组; <sup>△</sup>  $P < 0.05$ , vs 模型组。

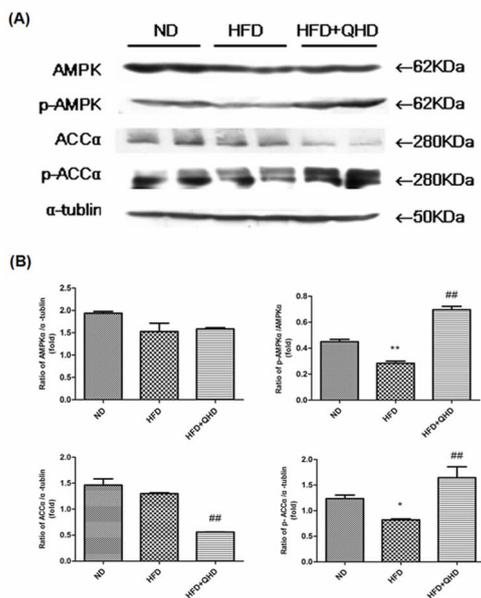


图 1 各组 AMPK、p-AMPK、ACCα 及 p-ACCα 蛋白表达情况

注: (A) WB 图片, (B) WB 图片条带灰度积分半定量柱状图; ND, HFD, HFD + QHD 分别为正常组、模型组及祛湿化痰方组; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , vs 正常组; <sup>##</sup>  $P < 0.01$ , vs 模型组。

2.3 祛湿化痰方对 NAFL 大鼠肝组织 AMPK 及磷酸化 AMPK 蛋白含量、总蛋白及核蛋白 SREBP-1、CHREBP 含量、以及肝组织 ACC 及磷酸化 ACC 蛋白含量的影响 与正常组相比模型大鼠肝组织 AMPK 含量稍有下降, 祛湿化痰方干预后没有显著变化, 但肝脏 AMPK 活性形式 p-AMPK 含量模型组较正常组显著降低, 祛湿化痰方组能显著升高 p-AMPK 含量, 提高 AMPK 蛋白活性。

模型组大鼠肝组织 ACCα 蛋白含量与正常组相比无统计学意义, 但祛湿化痰方干预后, 高脂饮食模型大鼠肝组织 ACCα 蛋白含量显著降低。模型组

ACCα 蛋白 Ser79 磷酸化水平显著低于正常组, 祛湿化痰方干预能显著提高模型大鼠 ACCα 蛋白磷酸化水平。

与正常组相比, 模型组肝组织总蛋白中 SREBP-1 蛋白含量显著升高, 祛湿化痰方组与模型组相比没有太大变化。对于能体现蛋白活性的核蛋白 SREBP-1 蛋白含量模型组显著高于正常组, 且祛湿化痰方有显著的降低效应。

模型组大鼠肝组织总蛋白 CHREBP 含量与正常组相比无统计学意义, 但祛湿化痰方干预后, 高脂饮食模型大鼠肝组织总蛋白 CHREBP 含量显著降低。对于具有蛋白活性功能的核蛋白 CHREBP 含量, 模型组显著高于正常组, 且祛湿化痰方治疗组显著低于模型组。

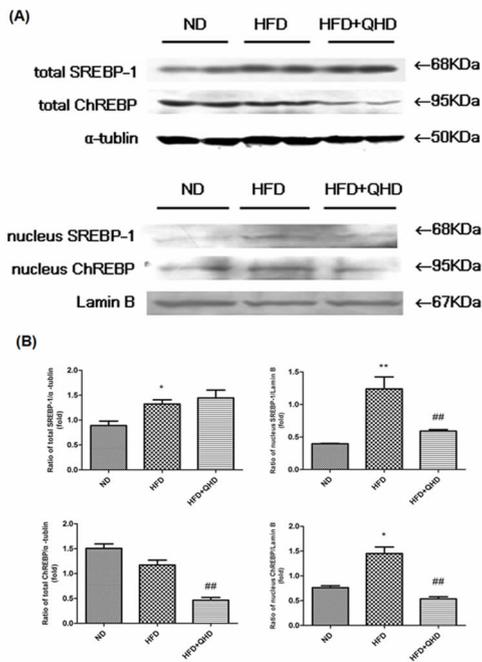


图 2 各组肝组织总蛋白及核蛋白 SREBP-1、CHREBP 表达情况

注: (A) WB 图片, (B) WB 图片条带灰度积分半定量柱状图; ND, HFD, HFD + QHD 分别为正常组、模型组及祛湿化痰方组; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , vs 正常组; <sup>##</sup>  $P < 0.01$ , vs 模型组。

2.4 祛湿化痰方对 NAFL 大鼠肝组织 AMPKα1、AMPKα2、SREBP-1、ACCα、SREBP-1c 及 CHREBP 基因表达的影响 模型大鼠 AMPKα1 基因表达较正常组显著降低, 模型大鼠 AMPKα2 基因表达与正常组相比虽无统计学意义, 有较大幅度降低, 祛湿化痰方与模型组相比 AMPKα1、AMPKα2 均有降低趋势。模型组肝组织 SREBP-1 基因表达量显著高于正常组, 祛湿化痰方组与模型组相比有降低趋势。正常

组、模型组与祛湿化痰方组肝组织 CHREBP/ACC $\alpha$  基因表达均无统计学意义。(见表 4)。

表 4 各组肝脏 AMPK $\alpha$ 1、AMPK $\alpha$ 2、SREBP-1、CHREBP 及 ACC $\alpha$  基因表达( $\bar{x} \pm s$ )

组别	AMPK $\alpha$ 1	AMPK $\alpha$ 2	SREBP-1	CHREBP	ACC $\alpha$
正常组	1.91 $\pm$ 0.4	2.19 $\pm$ 1.25	0.39 $\pm$ 0.06	2.05 $\pm$ 0.73	1.32 $\pm$ 0.54
模型组	1.03 $\pm$ 0.3*	1.34 $\pm$ 0.35	1.16 $\pm$ 0.69*	1.08 $\pm$ 0.55	1.02 $\pm$ 0.23
祛湿化痰方组	1.37 $\pm$ 0.65	0.91 $\pm$ 0.27	0.98 $\pm$ 0.16	0.9 $\pm$ 0.62	0.83 $\pm$ 0.31

注: \*P < 0.05, vs 正常组。

### 3 讨论

“祛湿化痰方”由茵陈、栀子等 5 味中药组成,是临床治疗 NAFLD 的有效中药复方<sup>[7]</sup>。近 10 年十余次动物实验反复证实了该方显著降低实验性 NAFL 大鼠肝脏脂肪含量、减轻肝脏炎症的药理效应,其降低肝组织 TG 和 FFA 降低效应尤为显著<sup>[2-4]</sup>。

AMPK 在肝脏脂质稳态调节中发挥重要作用。AMP 激活的 AMPK 作为一类重要的蛋白激酶与肥胖及代谢综合征相关疾病的发病密切相关<sup>[4]</sup>,成为近年来研究的热点。AMPK 系统是细胞能量的感受器。当代谢应激时,ATP 生成减少(例如葡萄糖和氧缺乏)而消耗增加(例如肌肉收缩),细胞内 AMP:ATP 的比值升高,AMPK 即被激活。一旦被激活,AMPK 打开产生 ATP 的分解代谢通路而关闭消耗 ATP 的过程,例如生物合成,细胞生长及增值。AMPK 复合物由  $\alpha$  催化亚单位和  $\beta$ 、 $\gamma$  调节亚单位构成,属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,其中  $\alpha$  亚单位的苏氨酸 172 位点及其磷酸化对 AMPK 活性的调节起重要作用,一旦 172 位苏氨酸磷酸化,AMPK 被激活为有活性的 p-AMPK 形式,则可通过调节下游蛋白激酶或调控各种基因表达从而影响机体的能量代谢。AMPK 在细胞能量平衡中的作用主要是通过对代谢酶的快速直接的修饰(磷酸化)实现的。

多项研究表明,无论在先天瘦素基因缺乏的 ob/ob 小鼠还是高糖或高脂饮食诱导的 NAFLD 动物模型中均存在 AMPK 磷酸水平及活性的降低,AMPK 基因及蛋白活性的改变在 NAFLD 的发病过程中起重要作用<sup>[8-9]</sup>。乙酰辅酶 A 羧化酶(Acetyl-CoA Carboxylase, ACC)和 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMG-CoA)是最早发现的两个 AMPK 的靶蛋白,其分别是脂肪酸和胆固醇合成过程中的关键酶。ACC 是丙二酰单酰辅酶 A 合成过程中的限速酶,而丙二酰单酰辅酶 A 既是脂肪酸合成的前体,又可抑制肉碱棕榈酰转移酶-1 的活性从而干扰长链脂酰辅酶 A 进入线粒体,最终抑制线粒体脂肪酸氧化。因此,

AMPK 通过磷酸化 ACC 抑制其活性,降低肝细胞中丙二酰单酰辅酶 A 的含量,从而抑制脂肪酸的合成并增强线粒体对脂肪酸的利用和氧化<sup>[4]</sup>。

SREBP-1C 是调节糖脂代谢的重要转录因子,它直接参与调控有关脂质合成相关酶基因如 ACC、FAS、SCD 的表达,增加肝脏脂质合成<sup>[10]</sup>。ChREBP 是在糖脂代谢过程中发挥重要作用的转录因子<sup>[10]</sup>,ChREBP 的靶基因主要是参与糖酵解和脂质合成的一些酶类,因而 ChREBP 的激活可促进葡萄糖向脂质转化。AMPK 可以减少再摄食诱导 SREBP-1c 和 ChREBP 的转录激活。此外,AMPK 还能够磷酸化 ChREBP Ser568 位点,使其与 DNA 的结合能力下降,从而抑制葡萄糖反应性基因的转录<sup>[11]</sup>。

鉴于 AMPK 蛋白活性及其调节的脂肪代谢相关靶蛋白活性改变在 NAFL 的发病过程中的重要作用,祛湿化痰方显著降低实验性脂肪肝肝脏脂肪含量有效防治 NALF 是否与调节该蛋白活性相关呢?本研究运用高脂饮食诱导的大鼠脂肪肝模型观察祛湿化痰方对 AMPK 蛋白活性及其相关脂肪代谢靶蛋白 SREBP-1、CHREBP、ACC 活性的影响,以探讨该方有效防治实验性脂肪肝的作用机制。

研究结果证实在高脂饮食诱导的 NAFL 模型中存在 AMPK 基因与蛋白磷酸化水平的下降、核蛋白 SREBP-1 及 CHREBP 表达的升高及 ACC 蛋白磷酸化水平的下降,揭示了 AMPK 及其调控的脂肪代谢通路与该模型肝脏脂肪过度沉积的之间的关系。同时,研究结果也显示祛湿化痰方干预后模型大鼠 AMPK、ACC 磷酸化水平显著升高、核蛋白 SREBP-1 及 CHREBP 含量显著降低,提示该复方对该模型 AMPK 活性及其相关的靶蛋白有良性调节作用。这可能是该方改善肝脏脂肪代谢、有效防治 NAFLD 的重要机制之一。

### 参考文献

[1] Dyson JK, Anstee QM, McPherson S. Non-alcoholic fatty liver disease: a practical approach to treatment[J]. Frontline Gastroenterol, 2014, 5 (4): 277 - 286.

[2] 张慧,冯琴,胡义扬,等.祛湿化痰方对 CCl4 复合高脂低蛋白饮食诱导的大鼠脂肪肝的防治作用[J].上海中医药杂志, 2006, 40 (3): 52 - 55.

[3] 冯琴,张慧,胡义扬,等.祛湿化痰方对单纯高脂饮食诱导的大鼠脂肪肝的防治作用[J].中西医结合肝病杂志, 2006, 16(1): 26 - 29.

[4] 李红山,冯琴,胡义扬,等.祛湿化痰方对高脂饮食诱导的大鼠肝脏脂质沉积的干预效应[J].中国中西医结合杂志, 2009, 29(12): 1096 - 1099.

- [28] 宋少刚, 杨雁, 陈敏珠. 黄芪总提取物对大鼠肝星状细胞增殖及产生胶原的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2001, 6(2): 111-113.
- [29] 马红, 王宝恩, 马雪梅. 黄芪抑制大鼠肝星状细胞增殖及胶原分泌的研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2001, 8(4): 35-36.
- [30] 马红, 王宝恩, 陈翌阳, 等. 黄芪对肝纤维化治疗作用的实验研究[J]. 中华肝脏病杂志, 1997, 5(1): 32-33.
- [31] 董玲, 孙剑勇, 朱新宇, 等. 甘草酸对肝星状细胞增殖、活化和细胞外基质合成的影响[J]. 中国临床医学, 2006, 13(1): 70-71.
- [32] 周朝晖, 蔡瑜, 沈锡中, 等. 甘草酸对 CCL<sub>4</sub> 肝纤维化大鼠肝组织 smad7 免疫组化表达的影响[J]. 中国临床医学, 2006, 13(1): 67-69.
- [33] 杨松海, 孙奋勇. 甘草酸抑制肝星状细胞增殖的分子机制初步研究[J]. 广东医学院学报, 2008, 3(26): 237-242.
- [34] 王磊, 刘平, 慕永平, 等. 清热利湿与益气古典方剂逆转二甲甲基亚硝胺大鼠肝硬化的细胞生物学基础研究[J]. 自然科学进展, 2007, 17(8): 1026-1035.
- [35] 闰晓凤, 刘平, 孙明瑜, 等. 黄芪汤对二甲甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化模型作用机制研究[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(23): 2410-2415.
- [36] 都金星, 邱冰峰, 刘平, 等. 黄芪汤组分抑制胆汁淤积性肝纤维化大鼠胆管上皮细胞增殖及其转分化的效应研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(1): 13-18.
- [37] Du J X, Sun M Y, Liu C, et al. Ingredients of Huangqi decoction slow biliary fibrosis progression by inhibiting the activation of transforming growth factor-beta signaling pathway[J]. BMC Complement Alternative Med, 2012, 12(1): 33.
- [38] Nomura F, Akashi S, Sakao Y, et al. Cutting edge: endotoxin tolerance in mouse peritoneal macrophages correlates with down-regulation of surface toll-like receptor 4 expression[J]. J Immunol, 2000, 164(7): 3476-3479.
- [39] 王登妮, 徐军全, 宋维芳, 等. 黄芪对肝纤维化的防治作用[J]. 中国医药导报, 2010, 7(9): 15-17.
- [40] 宋新文, 王宏伟, 申保生, 等. 复方甘草酸苷对慢性乙型肝炎患者肝纤维化指标及细胞因子的影响[J]. 中国药房, 2006, 17(2): 128-129.
- [41] 蔡瑜, 沈锡中, 王吉耀. 甘草酸对大鼠肝纤维化过程中肝组织基因表达的影响[J]. 中华医学杂志, 2003, 83(13): 1122-1125.
- [42] 李成浩, 张红英. 黄芪提取物对四氯化碳致大鼠肝纤维化的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 217-220.
- [43] 程鹏, 刘素侠, 孙晋浩, 等. 黄芪抗肝纤维化的作用与转化生长因子  $\beta_1$  及干扰素  $\gamma$  的关系[J]. 临床军医杂志, 2000, 28(3): 22-23.
- [44] 朱英, 刘平. Thy1.1 阳性肝脏卵圆细胞在大鼠肝硬化形成与消减过程中的动态表达[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(11): 823-827.
- [45] 朱英, 刘平. 肝脏卵圆细胞在二甲甲基亚硝胺致大鼠肝硬化形成过程中表达的动态变化及其意义[J]. 国外医学·消化系疾病分册, 2005, 25(1): 60-63.
- [46] 朱英, 刘平, 龙爱华. 二甲甲基亚硝胺所致大鼠肝硬化形成与逆转过程中 Thy1.1 与 OV6 阳性染色细胞比较[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(8): 953-957.
- [47] 朱英, 刘平. 干细胞在肝脏损伤时的作用机制探讨[J]. 实用肝脏病杂志, 2005, 8(2): 111-113.
- [48] 朱英, 刘平. 肝脏卵圆细胞定向分化在二甲甲基亚硝胺大鼠肝硬化消减过程中的意义[J]. 大连医科大学学报, 2007, 29(2): 106-109.
- [49] 朱英, 刘平. 黄芪汤对肝硬化大鼠肝脏卵原细胞肝向分化的作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 2012, 22(5): 293-295.
- [50] 龙爱华, 刘平, 李风华, 等. 不同配比黄芪汤干预大鼠胆汁淤积性肝硬化作用观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(7): 28-30.
- [51] 仝欣, 陈高峰, 陆燕, 等. 基于均匀设计分析黄芪汤活性组分抗二甲甲基亚硝胺大鼠肝纤维化的配伍作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(10): 1389-1393.
- [52] 武晓群, 周坤福. 黄芪延缓衰老的实验研究[J]. 河南中医, 2005, 25(5): 24.
- [53] 张海燕, 颜敏, 文学明. 黄芪抗脂质过氧化作用的研究[J]. 医药导报, 2002, 21(9): 542-543.
- [54] 王超, 包玉双, 曲凤玉, 等. 甘草对老年大鼠 CAT、GSH-Px、LPO 影响的实验研究[J]. 黑龙江医药科学, 2000, 23(2): 6.
- [55] 徐志南, 洪伟, 张建华. 黄精枸杞甘草对果蝇抗衰老作用的研究[J]. 中医研究, 1993, 6(4): 13-14.
- [56] 郭盛, 唐于平, 段金殿. 大枣的化学成分及药理作用研究进展[C]. 全国第8届天然药物资源学术研讨会论文集, 2008: 553-560.
- [57] 张博. 从黄芪六一保健茶对羟自由基清除作用的实验探讨其抗衰老作用[D]. 长春: 长春中医药大学, 2007.
- [58] 鲍宜桂. 黄芪六一汤加味治疗 II 型糖尿病 58 例[J]. 湖北中医杂志, 1997, 19(3): 17-18.
- [59] 刘斯尧. 加味黄芪六一汤治疗糖尿病周围神经病变[J]. 浙江中西医结合杂志, 2007, 17(3): 193.
- [60] 陈万允, 吴玉如, 蔡和雍. 黄芪六一汤治疗皮肤病[J]. 福建中医药, 1959(9): 42.

(2014-12-26 收稿 责任编辑: 洪志强)

## (上接第 156 页)

- [5] Hasenour CM, Berglund ED, Wasserman DH. Emerging role of AMP-activated protein kinase in endocrine control of metabolism in the liver[J]. Mol Cell Endocrinol, 2013, 366(2): 152-162.
- [6] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版)[S]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(3): 163-166.
- [7] 慕永平, 都金星, 刘平. 刘平教授治疗非酒精性脂肪性肝炎遣方用药经验探析[J]. 中西医结合肝病, 2009, 19(3): 170-171.
- [8] Minokoshi Y, Kim Y B, Peroni O D, et al. Leptin stimulates fatty acid oxidation by activating AMP activated protein kinase[J]. Nature, 2002, 415(6869): 339-343.
- [9] 丁晓洁, 王佑民, 王丽萍. 高脂饮食对大鼠肝脏组织 AMPK 表达及其活性的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2009, 44(6): 680-683.
- [10] Xu X, So JS, Park JG, et al. Transcriptional control of hepatic lipid metabolism by SREBP and ChREBP[J]. Semin Liver Dis, 2013, 33(4): 301-311.
- [11] Jeffrey D. Browning and Jay D. Horton. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2004, 114(2): 147.

(2014-12-26 收稿 责任编辑: 洪志强)