

细胞凋亡与脂肪性肝病研究进展

王玉洁, 赵红, 谢雯 (首都医科大学附属北京地坛医院肝病中心, 北京 100015)

脂肪性肝病是指脂肪(主要是甘油三酯)在肝脏过度沉积的临床病理综合征。目前,我国脂肪性肝病的发病率仅次于病毒性肝炎,居第二位。临床上,脂肪性肝病主要包括酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)和非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)。近年来,随着研究的深入展开发现,肝细胞凋亡在ALD和NAFLD发病过程中发挥重要作用,人们逐渐认识到细胞凋亡是ALD和NAFLD进展过程中细胞死亡的常规模式。

1 细胞凋亡与酒精性肝病

ALD是由于长期大量饮酒导致的中毒性肝损伤,最初为酒精性脂肪肝,进而发展为酒精性肝炎,最终导致酒精性肝纤维化和肝硬化。近来研究表明酒精是肝细胞的一种凋亡诱导剂,而肝细胞凋亡在ALD的发生、发展中起着重要作用。目前,酒精诱发肝细胞凋亡的发病机制有两种假设:氧化应激诱导的线粒体功能障碍和死亡受体介导的凋亡。

1.1 酒精性肝病中的内源性凋亡途径 活性氧(ROS)产生过多在酒精诱发的肝损伤中发挥重要作用。酒精在体内代谢可诱导肝细胞内细胞色素氧化酶2E1(CYP2E1)的生成,在ALD组织中CYP2E1活性普遍较高,具有很强的氧化酶活性,可使乙醇氧化生成羟乙基根,使肝细胞内活性氧产生过多^[1]。过多的ROS可导致脂类、蛋白质和DNA的氧化性损害^[2]。细胞膜上富含的多不饱和脂肪酸(PUFA)尤其易受ROS的攻击破坏,因其分子结构中含较多的烯丙氢^[2]。线粒体膜结构内因富含PUFA故也极易受ROS的毒性攻击。膜结构的破坏导致线粒体功能障碍,可以诱导更多ROS的产生,具体机制不明,也可以诱导FasL而致细胞凋亡^[3-5]。ROS还可以通过诱导线粒体膜通透转换孔的开放而引发线粒体膜通透转换(MPT),有证据表明,ROS也可以通过促进Bax从细胞内转位到线粒体内而改变线粒体膜的通透性^[6]。总之,线粒体膜的通透性改变后可以释放细胞色素C而触发内源性细胞凋亡级联反应。当损伤较严重、牵涉较多线粒体时ATP耗尽,细胞凋亡便转换为肿胀性坏死^[7]。Kurose等^[4]发现,与氧化应激在ALD患者肝细胞凋亡中的作用一样,ALD大鼠模型体内谷胱甘肽的减少也会使细胞凋亡率增加,且抗氧化治疗可减轻凋亡程度。Chen等^[8]发现在暴露于花生四烯酸后过表达CYP2E1的人类细胞系中,脂质过氧化反应与细

胞凋亡的发生都是增强的。孙丽娜等^[9]研究发现,ALD大鼠模型随疾病进展肝细胞凋亡指数呈上升趋势,肝细胞凋亡可能与胱硫醚 β 合成酶活性降低导致高同型半胱氨酸血症,从而诱发内质网应激、激活calpain-2和caspase-12的信号转导通路有关,这可能是ALD发病的重要机制之一。

1.2 酒精性肝病中的外源性凋亡途径 死亡受体诱导的凋亡亦与酒精性肝细胞凋亡的发生有关,尤其是Fas/FasL系统和TNF- α /TNF-R1系统。Taieb等^[10]报道ALD患者血清中可溶性Fas、FasL水平是增高的。亦有研究^[11,12]发现ALD患者血清TNF- α 水平也是增高的,且为酒精依赖性受试者病死率的一个重要评估指标。Natori等^[13]发现ALD患者肝细胞中Fas是高表达的,而Ribeiro等^[14]报道ALD患者肝细胞中Fas以及TNF-R1的表达均增加。Galle等^[15]发现ALD患者体内Fas mRNA水平是增高的。最新研究在基因表达水平上进行检测发现^[16],TNF受体超家族在ALD患者中过表达,尤其TNF样促凋亡因子受体Fn14,在ALD患者中选择性高表达。最近,任伟光等^[17]分别采用逆转录聚合酶链反应、Western blot及免疫组织化学染色检测酒精性脂肪性肝病小鼠模型肝组织中Fas、FasL、caspase 3及细胞色素P450 2E1(CYP 2E1)的mRNA及蛋白质表达,结果表明,肝细胞凋亡数随肝脏炎症及纤维化的加重而增高,并伴有凋亡相关基因表达增强,对照组、酒精性肝炎组、酒精性肝纤维化组细胞凋亡相关基因表达水平依次升高,认为Fas/FasL系统及其下游信号转导通路的激活可能是ALD中诱导肝细胞凋亡的主导因素,可进一步促进酒精性肝炎和肝纤维化的发生与进展。

实验性研究也提供了有力证据证明死亡受体介导的凋亡在ALD的发病中具有重要作用。Limuro等^[18]称应用抗TNF- α 抗体后可减轻持续性管饲ALD大鼠模型的肝损伤。而Yin等^[19]则用同样的模型发现TNF-R1敲除小鼠不会发生酒精诱发的肝脏脂肪变性和肝损伤。Pastorino等^[20,21]发现在ALD的发生中,TNF- α 的毒性作用是以一种依赖p53MAPK的方式、部分得通过MPT发生改变而发挥作用的。Rodriguez等^[22]研究表明,暴露于致病浓度的酒精后,人和大鼠的肝细胞均出现了TNF-R1表达水平的增高。这些研究表明酒精可直接诱发肝细胞内TNF-R1的表达,但具体机制不清。

2 细胞凋亡与非酒精性脂肪性肝病

NAFLD是指除外酒精和其他明确的肝损伤因素所致

的,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征,从单纯性脂肪肝到非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH),继之可进展为肝纤维化和肝硬化。NAFLD的发病机制尚未完全阐明,但最近的研究发现肝细胞凋亡在NAFLD向NASH的进展中发挥重要作用。

2.1 细胞凋亡在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用 目前有关NASH的发病有一个“二次打击”学说。肝脏脂肪变性是第一次打击,NAFLD发病的主要危险因素是与肥胖有关的代谢综合征,在NASH患者中普遍存在的胰岛素抵抗被认为在肝内脂质的沉积中发挥重要作用。胰岛素抵抗所致高胰岛素血症可使肝脏摄入、合成、降解以及分泌游离脂肪酸的途径发生改变,尽管这些个途径的相对重要性并不知晓,但总的效果是肝内脂肪酸的沉积,进而使肝脏极易受“二次打击”的攻击,引起炎症反应和进展性肝损害。

近来越来越多的证据表明,肝细胞凋亡主要参与了“第二次打击”过程,促进了单纯性脂肪肝向NASH的发展,导致了肝脏的损伤,并且与肝脏炎症及纤维化程度有着密切的关系。在一个典型NAFLD患者群体中^[23],应用TUNEL法和活化caspase免疫组化分析法发现,肝细胞凋亡是人类NAFLD的一个显著病理学特征,并且肝细胞凋亡程度与AST/ALT比值、炎症程度和纤维化分期成正相关。体内NAFLD动物模型和体外脂肪变肝细胞模型均证明了脂肪酸的沉积可以增加凋亡的发生率。在一个喂养高碳水化合物所致的典型NAFLD模型中发现,其对于Fas介导的肝细胞凋亡有较高敏感性。体外暴露于长链饱和和游离脂肪酸的肝细胞可发生剂量依赖性的细胞凋亡^[24]。Chavez-Tapia等^[25]在体外将肝细胞暴露于高浓度游离脂肪酸发现,早期即可出现肝细胞凋亡和氧自由基的生成。最近,晏贤春等^[26]在建立小鼠NAFLD体外细胞模型时发现,随着肝实质细胞内脂质累积程度的增加,肝细胞凋亡百分数明显增加,细胞内Fas表达量也明显增加。

2.2 非酒精性脂肪性肝病中的内源性凋亡途径 游离脂肪酸过度沉积于肝脏这样的非脂肪组织时可以通过非氧化性损伤途径而导致肝细胞损伤与凋亡。游离脂肪酸诱发细胞凋亡的机制有几种假说:ROS生成过多、溶酶体途径和死亡受体介导的途径。Seki等^[27]发现NASH患者的肝组织活检中脂质过氧化产物增加。在游离脂肪酸过多时也会生成过多的ROS,这一结论在几个NAFLD的动物模型中得到了证实^[2]。同ALD一样,过多的ROS会通过诱发线粒体功能障碍和(或)通过诱导FasL产生而致细胞凋亡。但是目前仍缺乏充足的证据证明在这种情况下氧化应激可触发肝细胞凋亡。体外脂肪变肝细胞模型证明,游离脂肪酸可促进Bcl家族中的促凋亡蛋白Bax从细胞内到溶酶体内的再分布,在某些特定刺激下Bax可以转移到细胞膜上参与膜通道的形成^[28]。这就可以通过改变溶酶体膜的通透性、释放组织蛋白酶B而活化溶酶体介导的凋亡途径。组织蛋白酶B可作用于线粒体引起线粒体功能障碍而引发细胞凋亡。

2.3 非酒精性脂肪性肝病中的外源性凋亡途径 死亡受体介

导的凋亡在NAFLD进展为NASH的过程中也发挥重要作用。有研究^[23]表明,NASH患者肝组织活检中Fas蛋白的表达是上调的,半定量分析还发现与单纯性脂肪肝和正常对照组相比,NASH患者的Fas免疫染色信号要强很多。暴露于游离脂肪酸的人肝细胞内Fas的表达上调而且对Fas介导的凋亡较敏感^[24]。康敏等^[29]研究发现,与对照组大鼠相比,高脂饲料组大鼠肝细胞凋亡百分数增加,且随时间延长凋亡率增加更明显,免疫组化染色表明随着肝脏脂肪变加重,Fas、FasL蛋白染色加深,阳性细胞数增加。游离脂肪酸促进Fas产生的机制需要进一步研究。Crespo等^[30]报道,与过度肥胖的年龄非NASH群体相比,NASH患者肝中的TNF- α 和TNF-R1 mRNA水平是上调的。Ribeiro等^[14]发现NASH患者肝组织活检中的TNF-R1表达也是上调的。动物性实验亦表明,TNF- α /TNF-R1系统在NAFLD的发病过程中具有重要作用。Li等^[31]研究发现,给予抗TNF-R1抗体后可减轻NAFLD小鼠模型的肝损伤程度,而敲除TNF-R1的小鼠模型不会再发生饮食诱发的肝脏脂肪变性以及肝损害。

2.4 细胞凋亡在非酒精性脂肪性肝病诊断与治疗中的应用 目前,肝组织活检是评估NAFLD疾病严重程度的唯一手段,尚急需开发有效的无创性检查手段。Wieckowska等^[32]分别通过原位免疫组化和ELISA的方法检测NAFLD患者血清中的细胞角蛋白-18片段(CK-18)水平,并与肝组织活检结果进行对比发现,与单纯脂肪肝或肝组织活检正常者相比,NASH患者血清中CK-18水平显著升高,诊断NASH的特异性和敏感性分别为99.9%和85.7%,认为CK-18水平可以作为预测NASH的一个独立因素。Shen等^[33]对147例NAFLD患者以及73例健康对照者进行研究,所有患者均经肝组织活检证实为NAFLD,结果显示CK-18 M30、M65、M65ED水平的改变与疾病进展程度成正比,其中仅M65、M65ED水平与纤维化进展程度成正比。蔡文品等^[34]对数例NAFLD患者静脉血中的CK-18片段水平进行了检测发现,NAFLD患者血清CK-18片段水平显著高于健康对照者,NASH组CK-18片段水平高于NAFLD组,认为论肝细胞凋亡产生的CK-18片段水平可用于NAFLD的诊断及NAFL与NASH的临床分型。Kälsch等^[35]对127例NAFLD患者进行血清CK-18片段检测也支持此结论。Feldstein等^[36]对201例肝组织活检证实的NAFLD患儿进行了血清CK-18片段的检测,结果显示NASH组CK-18片段水平较其他组明显升高,ROC曲线表明血清CK-18片段水平可以用来评估NAFLD患儿是否进展至NASH。以上结果表明,虽然存在一定争议,但肝细胞凋亡相关Caspase及其衍生物在未来仍有望成为独立预测NASH的一项非侵入性生物标记物,从而评估NAFLD患者的疾病严重程度。Manco等^[37]通过检测NAFLD患儿血清中TNF- α 和瘦素的水平,同时进行肝组织活检评分,结果表明,血清TNF- α 水平与肝组织活检结果具有较好的一致性,单独检测血清TNF- α 水平或者联合血清瘦素水平检测均可准确预测NAFLD患儿是否发生NASH病变。

目前推荐的NAFLD一线治疗方案是生活方式的改变,包括节食和运动^[38],临床上应用于NAFLD治疗的药物主

要有胰岛素增敏剂或改善胰岛素抵抗的药物、抗氧化剂及细胞保护剂、细胞因子抑制剂和降脂药^[39]。Fealy等^[40]研究发现,短期运动可以通过减少肝细胞凋亡而改善NAFLD病情。Cazanave等^[41]通过小鼠暴发性肝炎模型发现,与正常饮食组相比,肝脏谷胱甘肽高储备水平组能明显减轻Jo.2(一种Fas促效剂)诱导的肝细胞凋亡,减轻肝脏炎症反应,提示还原型谷胱甘肽可能具有一定的临床应用价值。Inoue等^[42]通过胆碱缺乏饮食获得大鼠肝癌模型,给予PBN(phenyl butyl nitron)处理可以降低Fas的表达,认为PBN具有抑制细胞凋亡的作用,通过抑制凋亡相关的炎症反应而抑制肿瘤的发生,并认为胆碱缺乏饮食模型也是一种NASH模型,早期Fas表达水平可作为评估NASH进展的一项很好的指标。张莉等^[43]发现在NASH大鼠模型中应用己酮可可碱可抑制肝脏中TNF- α 的表达,进而起到减轻肝组织炎症损伤、转氨酶水平的作用,同时可通过降低细胞外基质中I、III型胶原的合成而减轻NASH导致的肝纤维化,表明己酮可可碱对NASH可能具有一定疗效。

Caspase抑制剂是另一类很有前景的NAFLD治疗药物,已经证明IDN-6556、VX-166等Caspase抑制剂可以改善NAFLD动物模型的肝脏炎症并降低血清ALT水平^[44-46],Chalasan等^[47]进行了一个随机、双盲、安慰剂对照、多中心临床研究,对另一种不可逆、选择性Caspase-1、Caspase-8、Caspase-9抑制剂GS-9450的疗效及安全性进行了评估,表明GS-9450可明显降低NAFLD患者血清ALT水平及CK18水平,并且耐受性好,无严重不良反应发生。对于Caspase抑制剂类药物,仍有潜在致癌危险、停药后ALT明显反弹有引发急性肝衰可能以及很难评估疗效的顾虑^[48],目前有关Caspase抑制剂的临床试验主要以血清ALT及CK18水平作为主要疗效指标,但一半以上NAFLD患者血清ALT水平是正常的,而CK18可否作为NAFLD特异性血清标志物仍存在争议。总之,目前抑制肝细胞凋亡的药物在治疗NAFLD过程中的有效性及安全性证据仍不足够,尚需要大规模临床试验来证实。

3 结语

国内脂肪性肝病的发病率正在逐年增加,目前尚无特异性治疗药物,而细胞凋亡在脂肪性肝病的发病过程中普遍存在,故阐明细胞凋亡在脂肪性肝病发病机制中的具体作用环节可能为脂肪性肝病的诊治提供一种新思路。随着现代分子生物学的迅猛发展,细胞凋亡的分子生物学机制将会步入一个新的发展阶段。尤其较之于其他器官而言,肝细胞凋亡发生的特异性环节将对脂肪性肝病的诊治产生深远影响。

参考文献

- [1] Arteel GE. Oxidants and antioxidants in alcohol-induced liver disease[J]. *Gastroenterology*,2003,124:778-790.
- [2] Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury[J]. *J Clin Invest*,2004,114:147-152.
- [3] Kurose I, Higuchi H, Kato S, et al. Oxidative stress on mitochondria and cell membrane of cultured rat hepatocytes and perfused liver

- exposed to ethanol[J]. *Gastroenterology*,1997,112:1331-1343.
- [4] Kurose I, Higuchi H, Miura S, et al. Oxidative stress-mediated apoptosis of hepatocytes exposed to acute ethanol intoxication[J]. *Hepatology*,1997,25:368-378.
- [5] Hug H, Strand S, Grambihler A, et al. Reactive oxygen intermediates are involved in the induction of CD95 ligand mRNA expression by cytostatic drugs in hepatoma cells[J]. *J Biol Chem*,1997,272:28191-28193.
- [6] Adachi M, Higuchi H, Miura S, et al. Bax interacts with the voltage-dependent anion channel and mediates ethanol-induced apoptosis in rat hepatocytes[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*,2004,286:G695-705.
- [7] Jaeschke H, Lemasters JJ. Apoptosis versus oncotic necrosis in hepatic ischemia/reperfusion injury[J]. *Gastroenterology*,2003,125:1246-1257.
- [8] Chen Q, Galleano M, Cederbaum AI. Cytotoxicity and apoptosis produced by arachidonic acid in Hep G2 cells overexpressing human cytochrome P4502E1[J]. *J Biol Chem*,1997,272:14532-14541.
- [9] 孙丽娜,周东方,周俊英,等. 内质网应激在大鼠酒精性肝病肝细胞凋亡中的作用[J]. *中华肝脏病杂志*,2012,20:35-39.
- [10] Taieb J, Mathurin P, Poynard T, et al. Raised plasma soluble Fas and Fas ligand in alcoholic liver disease[J]. *Lancet*,1998,351:1930-1931.
- [11] Khoruts A, Stahnke L, McClain CJ, et al. Circulating tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 concentrations in chronic alcoholic patients[J]. *Hepatology*,1991,13:267-276.
- [12] Felver ME, Mezey E, McGuire M, et al. Plasma tumor necrosis factor alpha predicts decreased long-term survival in severe alcoholic hepatitis[J]. *Alcohol Clin Exp Res*,1990,14:255-259.
- [13] Natori S, Rust C, Stadheim LM, et al. Hepatocyte apoptosis is a pathologic feature of human alcoholic hepatitis[J]. *J Hepatol*,2001,34:248-253.
- [14] Ribeiro PS, Cortez-Pinto H, Solá S, et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappa B in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients[J]. *Am J Gastroenterol*,2004,99:1708-1717.
- [15] Galle PR, Hofmann WJ, Walczak H, et al. Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor and ligand in liver damage[J]. *J Exp Med*,1995,182:1223-1230.
- [16] Affò S, Dominguez M, Lozano JJ, et al. Transcriptome analysis identifies TNF superfamily receptors as potential therapeutic targets in alcoholic hepatitis[J]. *Gut*,2013,62:452-460.
- [17] 任伟光,孔令波,米红梅,等. FaS/Fas受体系统及其下游信号转导通路的激活促进酒精性肝炎及酒精性肝纤维化的进展[J]. *中华肝脏病杂志*,2013,21:129-133.
- [18] Iimuro Y, Gallucci RM, Luster MI, et al. Antibodies to tumor necrosis factor alpha attenuate hepatic necrosis and inflammation caused by chronic exposure to ethanol in the rat[J]. *Hepatology*,1997,26:1530-1537.
- [19] Yin M, Wheeler MD, Kono H, et al. Essential role of tumor necrosis factor alpha in alcohol-induced liver injury in mice[J]. *Gastroenterology*,1999,117:942-952.

- [20] Pastorino JG, Hoek JB. Ethanol potentiates tumor necrosis factor- α cytotoxicity in hepatoma cells and primary rat hepatocytes by promoting induction of the mitochondrial permeability transition[J]. *Hepatology*,2000,31:1141-1152.
- [21] Pastorino JG, Shulga N, Hoek JB. TNF- α -induced cell death in ethanol-exposed cells depends on p38 MAPK signaling but is independent of Bid and caspase-8[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*,2003,285:G503-516.
- [22] Rodriguez DA, Moncada C, Núñez MT, et al. Ethanol increases tumor necrosis factor- α receptor-1 (TNF-R1) levels in hepatic, intestinal, and cardiac cells[J]. *Alcohol*,2004, 33:9-15.
- [23] Feldstein AE, Canbay A et al. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Gastroenterology*,2003,125:437-443.
- [24] Feldstein AE, Canbay A, Guicciardi ME, et al. Diet associated hepatic steatosis sensitizes to Fas mediated liver injury in mice. *J Hepatol*,2003,39:978-983.
- [25] Chavez-Tapia NC, Rosso N, Tiribelli C. Effect of intracellular lipid accumulation in a new model of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *BMC Gastroenterol*,2012,1:12-20.
- [26] 晏贤春, 胡彬, 王赫, 等. 游离脂肪酸诱导小鼠肝实质细胞体外脂肪化并加速细胞凋亡[J]. *肝脏*,2013,18:306-309.
- [27] Seki S, Kitada T, Yamada T, et al. In situ detection of lipid peroxidation and oxidative DNA damage in non-alcoholic fatty liver diseases[J]. *J Hepatol*,2002,37:56-62.
- [28] Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A, et al. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression via a lysosomal pathway[J]. *Hepatology*,2004,40:185-194.
- [29] 康敏, 钟德军, 李鹏, 等. Fas/FasL信号传导通路对NAFLD大鼠肝细胞凋亡的影响[J]. *重庆医学*,2011,7:633-635.
- [30] Crespo J, Cayon A, Fernandez-Gil P, et al. Gene expression of tumor necrosis factor α and TNF- receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients[J]. *Hepatology*,2001,3:1158-1163.
- [31] Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, et al. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*,2003,37:343-350.
- [32] Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, et al. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*,2006,44:27-33.
- [33] Shen J, Chan HL, Wong GL, et al. Assessment of nonalcoholic fatty liver disease using serum total cell death and apoptosis markers[J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2012,36:1057-1066.
- [34] 蔡文品, 吴惠洁, 陈洁. 非酒精性脂肪性肝病患者血清细胞角蛋白18片段水平的变化[J]. *医学研究杂志*,2011,40:102-104.
- [35] Kälisch J, Bechmann LP, Kälisch H, et al. Evaluation of Biomarkers of NAFLD in a Cohort of Morbidly Obese Patients[J]. *J Nutr Metab*, 2011,2011:1-7.
- [36] Feldstein AE, Alkhouri N, De Vito R, et al. Serum Cytokeratin-18 Fragment Levels Are Useful Biomarkers for Nonalcoholic Steatohepatitis in Children[J]. *Am J Gastroenterol*,2013,108:126-1531.
- [37] Manco M, Marcellini M, Giannone G, et al. Correlation of serum TNF- α levels and histologic liver injury scores in pediatric nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Am J Clin Pathol*,2007,127:954-960.
- [38] Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association[J]. *Hepatology*,2012, 55: 2005-2023.
- [39] 陈林艳, 李海. 非酒精性脂肪性肝病的药物治疗进展[J]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2012,4:60-64.
- [40] Fealy CE, Haus JM, Solomon TP, et al. Short-term exercise reduces markers of hepatocyte apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *J Appl Physiol*,2012,113:1-6.
- [41] Cazanave S, Berson A, Haouzi D, et al. High hepatic glutathione stores alleviate Fas-induced apoptosis in mice[J]. *J Hepatol*,2007,46:858-868.
- [42] Inoue Y, Asanuma T, Smith N, et al. Modulation of Fas-FasL related apoptosis by PBN in the early phases of choline deficient diet-mediated hepatocarcinogenesis in rats[J]. *Free Radic Res*,2007,41:972-980.
- [43] 张莉, 贾继东, 张华 等. 己酮可可碱抑制非酒精性脂肪性肝炎 TNF- α 的实验研究[J]. *肝脏*,2007,12:261-264.
- [44] Valentino KL, Gutierrez M, Sanchez R, et al. First clinical trial of a novel caspase inhibitor: anti-apoptotic caspase inhibitor, IDN-6556, improves liver enzymes[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*,2003,41:441-449.
- [45] Anstee QM, Concas D, Kudo H, et al. Impact of pancaspase inhibition in animal models of established steatosis and non-alcoholic steatohepatitis[J]. *J Hepatol*,2010,53:542-550.
- [46] Witek RP, Stone WC, Karaca FG, et al. Pan-caspase inhibitor VX-166 reduces fibrosis in an animal model of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*,2009,50:1421-1430.
- [47] Chalasani N, Abdelmalek M, Bakken A, et al. A phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled study of GS-9450 in subjects with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*,2012,55:419-428.
- [48] Stella DB, Konstantinos T. Inhibition of apoptosis in the management of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*,2013,4:4-8.

收稿日期: 2013-03-13