

# 健脾疏肝丸对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝X受体 $\alpha$ -固醇调节元件结合蛋白-1-脂肪酸合成酶信号转导通路的影响

朱达<sup>1,2</sup>, 孙凤霞<sup>2</sup>, 李晓玲<sup>2</sup>, 徐春军<sup>2</sup>, 李杰<sup>2</sup>, 王傲然<sup>2</sup> (1.北京中医药大学, 北京 100029; 2.首都医科大学附属北京中医医院 感染科, 北京 100010)

**摘要:** 目的 探讨健脾疏肝丸对非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 大鼠肝X受体 (liver X receptor  $\alpha$ , LXR $\alpha$ )-固醇调节元件结合蛋白-1 (sterolregulatory element-binding protein-1, SREBP-1)-脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 信号转导通路的影响。方法 将32只无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) SD雄性大鼠按照随机数字表法分为正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组, 每组8只。正常组进食普通饲料, 其他组进食高脂饲料, 健脾疏肝丸组给予4.86 g/(kg·d)灌胃, 易善复组给予0.123 g/(kg·d)灌胃, 正常组和模型组给予等量蒸馏水灌胃。灌胃与造模同时进行, 共8周。检测大鼠血清丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、甘油三酯 (triglycerides, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 及白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 水平。对大鼠肝组织切片进行HE染色和油红O染色, 于光学显微镜下观察。采用免疫组织化学法、蛋白质免疫印迹法及实时荧光定量聚合酶链式反应 (real time polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测大鼠LXR $\alpha$ 、SREBP-1及FAS的表达水平。**结果** ①正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠ALT [ (3.40 $\pm$ 0.81) U/L vs (9.98 $\pm$ 2.27) U/L vs (7.80 $\pm$ 1.52) U/L vs (6.43 $\pm$ 1.89) U/L]、AST [ (10.61 $\pm$ 1.17) U/L vs (23.63 $\pm$ 4.82) U/L vs (18.04 $\pm$ 2.98) U/L vs (16.42 $\pm$ 3.30) U/L]、TNF- $\alpha$  [ (2.40 $\pm$ 0.96)  $\times 10^{-3}$   $\mu$ g/L vs (6.64 $\pm$ 0.92)  $\times 10^{-3}$   $\mu$ g/L vs (4.87 $\pm$ 1.35)  $\times 10^{-3}$   $\mu$ g/L vs (4.45 $\pm$ 1.39)  $\times 10^{-3}$   $\mu$ g/L]、IL-6 [ (0.95 $\pm$ 0.81) pg/ml vs (7.88 $\pm$ 3.08) pg/ml vs (3.17 $\pm$ 1.26) pg/ml vs (1.64 $\pm$ 0.55) pg/ml]、TG [ (0.33 $\pm$ 0.13) mmol/L vs (0.90 $\pm$ 0.24) mmol/L vs (0.62 $\pm$ 0.37) mmol/L vs 0.62 (0.46, 0.66) mmol/L]、TC [ (2.10 $\pm$ 0.42) mmol/L vs 5.34 (5.17, 6.12) mmol/L vs (3.68 $\pm$ 0.63) mmol/L vs (3.41 $\pm$ 0.81) mmol/L]、HDL-C [ (1.07 $\pm$ 0.17) mmol/L vs (0.62 $\pm$ 0.14) mmol/L vs (0.78 $\pm$ 0.13) mmol/L vs (0.79 $\pm$ 0.12) mmol/L]及LDL-C [0.38 (0.26, 0.41) mmol/L vs (0.69 $\pm$ 0.11) mmol/L vs (0.41 $\pm$ 0.13) mmol/L vs (0.43 $\pm$ 0.10) mmol/L]水平差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与正常组相比, 模型组AST、ALT、LDL-C、TG、TC、IL-6及TNF- $\alpha$ 显著升高, HDL-C显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 健脾疏肝丸组和易善复组AST、ALT、LDL-C、TG、TC、IL-6、TNF- $\alpha$ 显著降低, HDL-C显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与健脾疏肝丸组相比, 易善复组大鼠血清TC显著降低 ( $P < 0.05$ ), 其他各指标差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。②肝组织HE染色和油红O染色示: 与正常组相比, 模型组大鼠肝脏脂肪变严重; 与模型组相比, 健脾疏肝丸组大鼠肝脏脂肪变减轻。③免疫组织化学结果表明, 正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠LXR $\alpha$  (345872 $\pm$ 52737 vs 544998 $\pm$ 55506 vs 436319 $\pm$ 65076 vs 448588 $\pm$ 104641)、SREBP-1 (259408 $\pm$ 71143 vs 538701 $\pm$ 62336 vs 399705 $\pm$ 102395 vs 394167 $\pm$ 158047)和FAS (201683 $\pm$ 48205 vs 466884 $\pm$ 74934 vs 425589 $\pm$ 63672 vs 417852 $\pm$ 84373)相对表达水平差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与正常组相比, 模型组各蛋白相对表达水平均显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 健脾疏肝丸组与易善复组各蛋白相对表达水平显著下降 ( $P < 0.05$ ); 健脾疏肝丸组与易善复组各蛋白相对表达水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。④Western blot结果表明, 正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠LXR $\alpha$  [0.80 $\pm$ 0.29 vs 1.57 (1.30, 1.67) vs

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2020.02.011

基金项目: 北京中医医院院级课题暨两院合作课题 (LY201718); 北京市属医院科研培育计划项目 (PZ2019011)

通讯作者: 孙凤霞 Email: sunfengxia01969@163.com

1.09 ± 0.30 vs 1.10 ± 0.36]、SREBP-1 (0.42 ± 0.12 vs 1.15 ± 0.45 vs 0.86 ± 0.20 vs 0.84 ± 0.20) 和FAS (0.43 ± 0.12 vs 1.10 ± 0.40 vs 0.81 ± 0.26 vs 0.80 ± 0.28) 相对表达水平差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与正常组对比, 模型组小鼠各蛋白相对表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组对比, 健脾疏肝丸组及易善复组小鼠LXR $\alpha$ 蛋白相对表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), 健脾疏肝丸组与易善复组相比, 各蛋白相对表达水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。⑤正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠肝组织LXR $\alpha$  [1.13 ± 0.38 vs 4.14 (4.01, 4.35) vs 2.65 ± 1.85 vs 1.35 (0.54, 4.23)], SREBP-1、FAS [1.37 ± 0.49 vs 4.35 ± 1.97 vs 1.98 (1.88, 3.22) mRNA相对表达量差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与正常组相比, 模型组LXR $\alpha$  [1.46 ± 0.51 vs 6.13 ± 1.17 vs 3.82 ± 2.06 vs 1.56 (1.19, 4.74)], SREBP-1、FAS vs 1.83 (1.64, 4.29) mRNA相对表达量显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组对比, 健脾疏肝丸组及易善复组LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS mRNA表达均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 健脾疏肝丸组与易善复组相比, LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS mRNA表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论 健脾疏肝丸对大鼠NAFLD的改善作用可能与其抑制LXR $\alpha$ -SREBP-1-FAS信号转导通路有关。

**关键词:** 健脾疏肝丸; 脂肪性肝病, 非酒精性; 肝X受体 $\alpha$ -固醇调节元件结合蛋白-1-脂肪酸合成酶信号转导通路

### Effects of Jianpi Shugan Pill on liver X receptor $\alpha$ -sterolregulatory element-binding protein-1-fatty acid synthase signaling transduction pathway in rats with non-alcoholic fatty liver disease

Zhu Da<sup>1,2</sup>, Sun Fengxia<sup>2</sup>, LI Xiaoling<sup>2</sup>, XU Chunjun<sup>2</sup>, LI Jie<sup>2</sup>, WANG Aoran<sup>2</sup> (1.Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2.Department of Infectious Diseases, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100010, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of Jianpi Shugan Pill on liver X receptor  $\alpha$  (LXR $\alpha$ )-sterolregulatory element-binding protein-1 (SREBP-1)-fatty acid synthase (FAS) signaling pathway in rats with non-alcoholic fatty liver disease. **Methods** Total of 32 specific pathogen free (SPF) SD male rats were randomly divided into normal group, model group, Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group according to random digital tables method, 8 rats in each group. Rats in normal group were fed with normal diet, and rats in other groups were fed with high fat diet. Rats in Jianpi Shugan Pill group were given Jianpi Shugan Pill 4.86 g/(kg·d) and rats in Essentiale group were given Essentiale 0.123 g/(kg·d) by gavage. Rats in normal group and model group were given the same amount of distilled water by gavage. Gavage and molding were carried out simultaneously for 8 weeks. Rats were sacrificed at the end of the 8 th week, and serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), triglycerides (TG), total cholesterol (TC), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) were detected. Liver tissue sections of rats were stained by HE and oil red O, and were observed by optical microscope. Immunohistochemical method, Western blot and real time polymerase chain reaction (RT-PCR) were used to detect the expression levels of LXR $\alpha$ , SREBP-1 and FAS. **Results** ①ALT [(3.40 ± 0.81) U/L vs (9.98 ± 2.27) U/L vs (7.80 ± 1.52) U/L vs (6.43 ± 1.89) U/L], AST [(10.61 ± 1.17) U/L vs (23.63 ± 4.82) U/L vs (18.04 ± 2.98) U/L vs (16.42 ± 3.30) U/L], TNF- $\alpha$  [(2.40 ± 0.96) × 10<sup>-3</sup> μg/L vs (6.64 ± 0.92) × 10<sup>-3</sup> μg/L vs (4.87 ± 1.35) × 10<sup>-3</sup> μg/L vs (4.45 ± 1.39) × 10<sup>-3</sup> μg/L], IL-6 [(0.95 ± 0.81) pg/ml vs (7.88 ± 3.08) pg/ml vs (3.17 ± 1.26) pg/ml vs (1.64 ± 0.55) pg/ml], TG [(0.33 ± 0.13) mmol/L vs (0.90 ± 0.24) mmol/L vs (0.62 ± 0.37) mmol/L vs 0.62 (0.46, 0.66) mmol/L], TC [(2.10 ± 0.42) mmol/L vs 5.34 (5.17, 6.12) mmol/L vs (3.68 ± 0.63) mmol/L vs (3.41 ± 0.81) mmol/L], HDL-C [(1.07 ± 0.17) mmol/L vs (0.62 ± 0.14) mmol/L vs (0.78 ± 0.13) mmol/L vs (0.79 ± 0.12) mmol/L] and LDL-C [0.38 (0.26, 0.41) mmol/L vs (0.69 ± 0.11) mmol/L vs (0.41 ± 0.13) mmol/L vs (0.43 ± 0.10) mmol/L] of rats in normal group, model group, Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with normal group, AST, ALT, LDL-C, TG, TC, IL-6 and TNF- $\alpha$  of rats in model group increased significantly and HDL-C decreased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, AST, ALT, LDL-C, TG, TC, IL-6 and TNF- $\alpha$  of rats in Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group decreased significantly and HDL-C increased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with Jianpi Shugan Pill group, TC of rats in Essentiale group decreased significantly, and there were no significant differences in other indexes ( $P > 0.05$ ). ②HE and oil red O staining showed that fatty lesions in liver were severe in model group than the normal group, which were alleviated in Jianpi Shugan pill group. ③Immunohistochemical results showed that relative expression

level of LXR $\alpha$  ( $345872 \pm 52737$  vs  $544998 \pm 55506$  vs  $436319 \pm 65076$  vs  $448588 \pm 104641$ ), SREBP-1 ( $259408 \pm 71143$  vs  $538701 \pm 62336$  vs  $399705 \pm 102395$  vs  $394167 \pm 158047$ ) and FAS ( $201683 \pm 48205$  vs  $466884 \pm 74934$  vs  $425589 \pm 63672$  vs  $417852 \pm 84373$ ) of rats in normal group, model group, Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, the above relative expression levels of rats in model group increased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, the above relative expression levels of rats in Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences in the above relative expression levels of rats in Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group ( $P > 0.05$ ). ④Western blot results showed that LXR $\alpha$  [ $0.80 \pm 0.29$  vs  $1.57$  ( $1.30, 1.67$ ) vs  $1.09 \pm 0.30$  vs  $1.10 \pm 0.36$ ], SREBP-1 ( $0.42 \pm 0.12$  vs  $1.15 \pm 0.45$  vs  $0.86 \pm 0.20$  vs  $0.84 \pm 0.20$ ) and FAS ( $0.43 \pm 0.12$  vs  $1.10 \pm 0.40$  vs  $0.81 \pm 0.26$  vs  $0.80 \pm 0.28$ ) of rats in in normal group, model group, Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, the above relative expression levels of rats in model group increased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, the LXR $\alpha$  relative expression level of rats in Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences in the above relative expression levels of rats between Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group ( $P > 0.05$ ). ⑤Relative expression levels of LXR $\alpha$  [ $1.13 \pm 0.38$  vs  $4.14$  ( $4.01, 4.35$ ) vs  $2.65 \pm 1.85$  vs  $1.35$  ( $0.54, 4.23$ )], SREBP-1 [ $1.46 \pm 0.51$  vs  $6.13 \pm 1.17$  vs  $3.82 \pm 2.06$  vs  $1.56$  ( $1.19, 4.74$ )] and FAS [ $1.37 \pm 0.49$  vs  $4.35 \pm 1.97$  vs  $1.98$  ( $1.88, 3.22$ ) vs  $1.83$  ( $1.64, 4.29$ )] mRNA of rats in normal group, model group, Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, the relative expression levels of LXR $\alpha$ , SREBP-1 and FAS mRNA of rats in Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences in the above indexes of rats in Jianpi Shugan Pill group and Essentiale group ( $P > 0.05$ ). **Conclusions** The therapeutic effect of Jianpi Shugan Pill on NAFLD rats may be related to its obstruction of LXR $\alpha$ -SREBP-1-FAS signaling transduction pathway.

**Key words:** Jianpi Shugan Pill; Fatty liver disease, non-alcoholic; Liver X receptor  $\alpha$ -sterolregulatory element-binding protein-1-fatty acid synthase signaling transduction pathway

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是指除外大量饮酒史和其他明确原因所致的肝损伤, 脂类物质在肝细胞内大量蓄积的一种病理状态。NAFLD的具体发病机制尚未完全明确, 其中“二次打击”学说已被广泛认同, 即脂类在肝细胞内大量聚集 (一次打击), 诱发一系列氧化、炎症反应 (二次打击)。NAFLD的药物治疗主要为改善胰岛素抵抗、代谢紊乱及保肝抗炎, 但更重要的是应通过控制饮食及加强锻炼进行防治<sup>[1]</sup>。NAFLD归属于中医的“肝积”范畴, 多种原因所致的痰、湿、瘀、热蕴积肝脏, 造成NAFLD的发生。健脾疏肝丸是北京中医医院肝病科根据著名肝病大家关幼波教授临床经验研制的院内制剂, 具有“健脾和胃、疏肝理气”的作用, 临床上广泛用于各种肝郁脾虚证患者, 尤其常用于各种慢性肝炎和脂肪肝患者。前期临床研究表明, 健脾疏肝丸可显著改善NAFLD患者临床症状, 降低血清丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 及血脂水平, 改善脂肪肝<sup>[2,3]</sup>。然而, 健脾疏肝丸治疗NAFLD的

机制尚未明确, 因此, 进一步探讨其具体机制具有重要意义。

肝X受体 $\alpha$  (liver X receptor  $\alpha$ , LXR $\alpha$ )-固醇调节元件结合蛋白-1 (sterolregulatory element-binding protein-1, SREBP-1)-脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 信号转导通路在脂肪代谢过程中发挥核心作用<sup>[4]</sup>。LXR $\alpha$ 是一种对脂肪和胆固醇代谢具有重要作用的转录因子, 与脂质代谢密切相关<sup>[5]</sup>, 并可通过上调下游因子SREBP-1的表达来诱导NAFLD的发生<sup>[6]</sup>, SREBP-1的激活可刺激其下游因子FAS的表达, 进一步加剧NAFLD的发展<sup>[7]</sup>。健脾疏肝丸是否通过抑制LXR $\alpha$ -SREBP-1-FAS信号转导通路治疗NAFLD尚未明确。本研究以高脂饲料喂养的模型大鼠为研究对象, 探讨健脾疏肝丸治疗NAFLD的作用机制。

## 1 资料与方法

1.1 实验动物 无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) SD雄性大鼠32只, 6~8周龄, 体质量 ( $200 \pm 20$ ) g, 购自北京斯贝服生物科技有限公司, 动物合格证编号: 1404160003, 许可证号: SCXK (浙) 2014-0001。

1.2 实验药物 健脾疏肝丸(首都医科大学附属北京中医医院;批号:Z20053309),成分:党参、山药、苍术、薏苡仁、香橼、郁金、赤芍、香附、当归、砂仁、陈皮;成人剂量:每日3次,一次2丸,9 g/丸,共计54 g/d;易善复[赛诺菲(北京)制药有限公司;批号:H20059010]成分:多烯磷脂酰胆碱;成人剂量:每日3次,一次2粒,228 mg/粒,共计1.368 g/d,大鼠的灌胃计量按“人和动物体表面积折算的等效剂量比值表”计算<sup>[8]</sup>。

1.3 动物模型的建立、分组及给药 采用随机数字表法将大鼠分为正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组,每组各8只。参考相关文献<sup>[9]</sup>进行造模,正常组进食普通饲料,其他组进食高脂饲料,高脂饲料(52.5%基础饲料、10%鲜奶粉、10%果糖、10%蛋黄粉、5%食用盐、10%熟猪油、2%胆固醇、0.5%胆盐)购自北京华阜康生物科技股份有限公司[SCXK(京)2014-0008]。健脾疏肝丸组给予4.86 g/(kg·d)灌胃(健脾疏肝丸与适量水溶合,形成汤剂),易善复组给予0.123 g/(kg·d)灌胃,正常组和模型组给予等量蒸馏水灌胃。灌胃与造模同时进行,共8周。

1.4 样本采集与检测 8周实验周期结束后,以1%戊巴比妥钠麻醉大鼠,麻醉剂量为1 ml/100 g,腹主动脉取血,静置离心后取血清,检测AST、ALT、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、甘油三酯(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )及白介素-6(interleukin-6, IL-6)水平。取大鼠肝最大叶,从中间位置向外依次切成5份(宽度1 cm左右),分别进行HE染色、油红O染色、免疫组织化学染色、蛋白质免疫印迹实验(Western blot)和实时荧光定量聚合酶链式反应(real time polymerase chain reaction, RT-PCR)检测。

1.4.1 肝组织病理检测 对大鼠肝组织切片进行HE染色和油红O染色,于光学显微镜下观察。

1.4.2 免疫组织化学法检测肝组织LXR $\alpha$ 、SREBP-1及FAS蛋白的表达 取肝组织切片脱蜡、抗原修复,分别加入一抗兔LXR $\alpha$ 多抗(1:100)、一抗兔SREBP-1多抗(1:500)、一抗兔FAS多抗(1:50)及二抗酶标山羊抗小鼠免疫球蛋白(Immunoglobulin, Ig)G(通用性试剂盒,无需稀释)。经显色、浸液,水洗、脱水、透明及封片后,采用Image Pro Plus 6.0医学图片数码分析软件进行图像的定量分析,每张切片随机选取3张400倍

视野下的肝脏病理图像,测定LXR $\alpha$ 、SREBP-1及FAS阳性表达的棕黄色颗粒的累计光密度数值。

1.4.3 Western blot定量检测肝组织LXR $\alpha$ 、SREBP-1和FAS蛋白表达 采用RIPA裂解液裂解肝组织匀浆,13000 r/min离心15 min(离心半径10 cm),收获蛋白,变性,进行SDS-PAGE电泳。电泳条件:恒压90 V,20 min后恒压120 V,湿转法。转膜条件:300 mA恒流,0.45  $\mu$ m孔径NC膜,转膜时间1 h,封闭。加入一抗兔抗大鼠FAS多抗(1:1000),兔抗大鼠LXR $\alpha$ 多抗(1:1000),兔抗鼠SREBP-1多抗(1:500),加入FAS、LXR $\alpha$ 、SREBP-1对应的二抗山羊抗兔IgG(H+L)HRP(1:20000)孵育40 min,发光,定影。内参蛋白为GAPDH,加入GAPDH鼠单抗(浓度1:5000)、GAPDH对应二抗羊抗小鼠IgG(H+L)HRP(1:10000),洗涤,发光,定影。采用Quantity One图像分析系统测量条带的光密度值。

1.4.4 RT-PCR检测肝组织LXR $\alpha$ 、SREBP-1及FAS mRNA的表达 采用TRNzol总RNA提取试剂进行肝组织总RNA的提取。采用RT-PCR检测肝组织LXR $\alpha$ 、SREBP-1及FAS mRNA的表达。引物序列见表1。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算mRNA的相对表达量。

### 1.5 主要试剂及仪器

1.5.1 主要试剂 ALT、AST、TG、TC、HDL-C及LDL-C检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所有限公司,TNF- $\alpha$ 和IL-6检测试剂盒购自深圳欣博盛生物科技有限公司,蛋白酶抑制剂购自瑞士Roche公司(批号:Cat No.11697498001),RIPA总蛋白提取试剂盒及BCA蛋白定量试剂盒购自美国Sigma公司(批号分别为Cat No.R0278、Cat No.BCA1),TRNzol总RNA提取试剂购自天根生化科技(北京)有限公司(批号:DP405-02),引物由中国Invitrogen公司合成,兔FAS多克隆抗体购自美国CST公司(批号:3180),兔抗大鼠LXR $\alpha$ 多抗、兔抗鼠SREBP-1多抗购自Abcam公司(批号分别为ab41902、ab28481),GAPDH鼠单抗和B-tubulin鼠单抗购自锐尔康生物公司(批号分别为REK0005、Cat No.REK0010),山羊抗兔IgG(H+L)HRP及山羊抗鼠IgG(H+L)HRP购自中国Jackson公司(批号分别为Cat No.111035003、Cat No.115035003)。

1.5.2 仪器 Spectra MAX M2多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司,仪器型号:M2),台式离心机(德国Sigma Laborzentrifugen GmbH,仪器型

号: 1-14), 冰冻切片机(中国Thermo scientific公司, Cryotome E), 离心机Centrifuge 5415D(中国Eppendorf公司), 分光光度计NANODROP 2000(中国Thermo scientific公司), 凝胶成像系统Tanon 1600(上海天能科技有限公司), 荧光定量PCR仪ABI7500(中国Applied Biosystems公司)。

1.6 统计学处理 采用SPSS20.0统计软件进行数据分析。AST、ALT、TNF- $\alpha$ 及IL-6等符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析, 多重比较采用LSD-*t*检验, TG、TC及LXR $\alpha$ 等数据中不符合正态分布的以 $M(p_{25}, p_{75})$ 表示, 多组间比较采用秩和检验, 多重比较采用Nemenyi法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠生物化学指标 各组大鼠AST、ALT、TNF- $\alpha$ 、IL-6、TG、TC、HDL-C及LDL-C水平差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与正常组相比, 模型组AST、ALT、LDL-C、TG、TC、IL-6及TNF- $\alpha$

显著升高, HDL-C显著降低( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 健脾疏肝丸组和易善复组AST、ALT、LDL-C、TG、TC、IL-6、TNF- $\alpha$ 显著降低, HDL-C显著升高( $P < 0.05$ ); 与健脾疏肝丸组相比, 易善复组大鼠血清TC显著降低( $P < 0.05$ ), 其他各指标差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表2。

2.2 肝组织病理 HE染色示正常组大鼠肝细胞内几乎未见脂肪空泡, 极少见炎性细胞浸润, 肝索呈放射态整齐排列(图1A); 模型组肝细胞内细胞核被脂肪空泡挤至边缘, 肝索畸形, 大量炎性细胞聚集浸润, 肝细胞坏死明显(图1B); 与模型组相比, 健脾疏肝丸组与易善复组炎性细胞浸润现象均明显减少, 肝细胞散在脂肪空泡(图1C、1D)。油红O染色示正常组肝组织未见脂滴, 肝细胞索排列整齐(图2A), 模型组肝组织可见广泛鲜红色脂滴, 提示肝细胞内大量脂质沉积(图2B), 与模型组相比, 健脾疏肝丸组与易善复组肝组织红色脂滴密度均明显下降(图2C、2D)。

2.3 免疫组织化学染色检测肝组织LXR $\alpha$ 、SREBP-1及FAS蛋白相对表达水平 免疫组织化学染色示LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS蛋白染色阳性物质广泛分布在细胞浆中(图3)。与正常组相比, 模型组LXR $\alpha$ 、SREBP-1及FAS蛋白相对表达水平均显著升高( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 健脾疏肝丸组与易善复组LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS蛋白相对表达水平显著下降( $P < 0.05$ ); 健脾疏肝丸组与易善复组各蛋白相对表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表3。

表1 RT-PCR 检测肝组织LXR $\alpha$ 、SREBP-1及FAS mRNA表达的引物序列

引物名称	序列
LXR $\alpha$	上游引物: 5'-CCAAAATGCTGGGGAACGAG-3' 下游引物: 5'-CCACCGCTATGGCAAATGTA-3'
SREBP1	上游引物: 5'-AGGGAGTTCTCAGATGCTCTTGGAT-3' 下游引物: 5'-GTCTGTGCCAGTGGTGGTAGCC-3'
FAS	上游引物: 5'-ATCAATAATCATGGCTGTGT-3' 下游引物: 5'-TATTTGAGTGATCCCTGCT-3'
GAPDH	上游引物: 5'-CCTTCCGTGTTCCCTACCCC-3' 下游引物: 5'-GCCCAGGATGCCCTTTAGTG-3'

表2 正常组、模型组、健脾疏肝丸组、易善复组大鼠肝功能、炎性因子及血脂水平

组别	ALT ( $\bar{x} \pm s$ , U/L)	AST ( $\bar{x} \pm s$ , U/L)	TNF- $\alpha$ ( $\bar{x} \pm s$ , $\times 10^{-3} \mu\text{g/L}$ )	IL-6 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/ml)
正常组 ( $n=8$ )	3.40 $\pm$ 0.81	10.61 $\pm$ 1.17	2.40 $\pm$ 0.96	0.95 $\pm$ 0.81
模型组 ( $n=8$ )	9.98 $\pm$ 2.27 <sup>a</sup>	23.63 $\pm$ 4.82 <sup>a</sup>	6.64 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>	7.88 $\pm$ 3.08 <sup>a</sup>
健脾疏肝丸组 ( $n=8$ )	7.80 $\pm$ 1.52 <sup>ab</sup>	18.04 $\pm$ 2.98 <sup>ab</sup>	4.87 $\pm$ 1.35 <sup>ab</sup>	3.17 $\pm$ 1.26 <sup>ab</sup>
易善复组 ( $n=8$ )	6.43 $\pm$ 1.89 <sup>ab</sup>	16.42 $\pm$ 3.30 <sup>ab</sup>	4.45 $\pm$ 1.39 <sup>ab</sup>	1.64 $\pm$ 0.55 <sup>ab</sup>
统计量值	$F=20.84$	$F=20.71$	$F=17.61$	$F=25.96$
$P$ 值	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$
组别	TG* (mmol/L)	TC* (mmol/L)	HDL-C ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)	LDL-C* (mmol/L)
正常组 ( $n=8$ )	0.33 $\pm$ 0.13	2.10 $\pm$ 0.42	1.07 $\pm$ 0.17	0.38 (0.26, 0.41)
模型组 ( $n=8$ )	0.90 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	5.34 (5.17, 6.12) <sup>a</sup>	0.62 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	0.69 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
健脾疏肝丸组 ( $n=8$ )	0.62 $\pm$ 0.37 <sup>ab</sup>	3.68 $\pm$ 0.63 <sup>ab</sup>	0.78 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	0.41 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>
易善复组 ( $n=8$ )	0.62 (0.46, 0.66) <sup>ab</sup>	3.41 $\pm$ 0.81 <sup>abc</sup>	0.79 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.43 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>
统计量值	$z=16.38$	$z=25.79$	$F=14.76$	$F=17.05$
$P$ 值	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$

注: 与正常组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与健脾疏肝丸组相比, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; \*符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不符合正态分布的数据以 $M(p_{25}, p_{75})$ 表示



2.4 Western Blot 检测各组大鼠肝组织LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS蛋白相对表达水平 与正常组对比,模型组小鼠LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS蛋白相对表达水平显著升高( $P < 0.05$ );与模型组对比,健脾疏肝丸组及易善复组小鼠LXR $\alpha$ 蛋白相对表达水平显著降低( $P < 0.05$ ),健脾疏肝丸组与易善复组相比,LXR $\alpha$ 、SREBP-1及FAS蛋白相对表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表4、图4。

2.5 各组大鼠肝组织LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS mRNA相对表达量 与正常组相比,模型组LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS mRNA相对表达量显著升高( $P < 0.05$ );与模型组对比,健脾疏肝丸组及易善复组LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS mRNA表达均显著降低( $P < 0.05$ ),健脾疏肝丸组与易善复组相比,LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS mRNA表达的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表5。

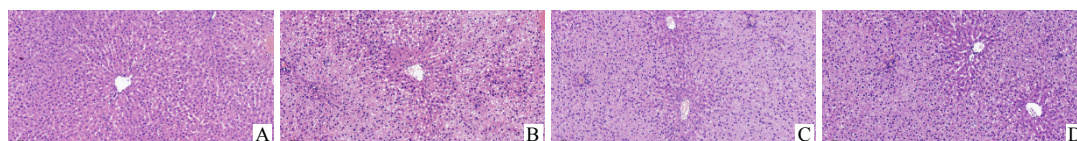


图1 正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠肝组织 HE 染色病理图( $\times 200$ )

注: A 为正常组,肝细胞内几乎未见脂肪空泡,极少见炎性细胞浸润,肝索呈放射状整齐排列;B 为模型组,肝细胞内细胞核被脂肪空泡挤至边缘,肝索畸形,大量炎性细胞聚集浸润,肝细胞坏死明显;C、D 分别为健脾疏肝丸组、易善复组,与模型组相比,炎性细胞浸润明显减少,肝细胞散在脂肪空泡

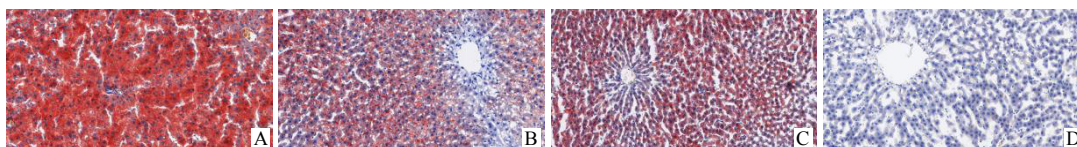


图2 正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠肝组织油红 O 染色病理图( $\times 200$ )

注: A 为正常组,肝组织未见脂滴,肝细胞索排列整齐;B 为模型组,肝组织可见广泛鲜红色脂滴;C、D 分别为健脾疏肝丸组、易善复组,肝组织红色脂滴密度明显下降

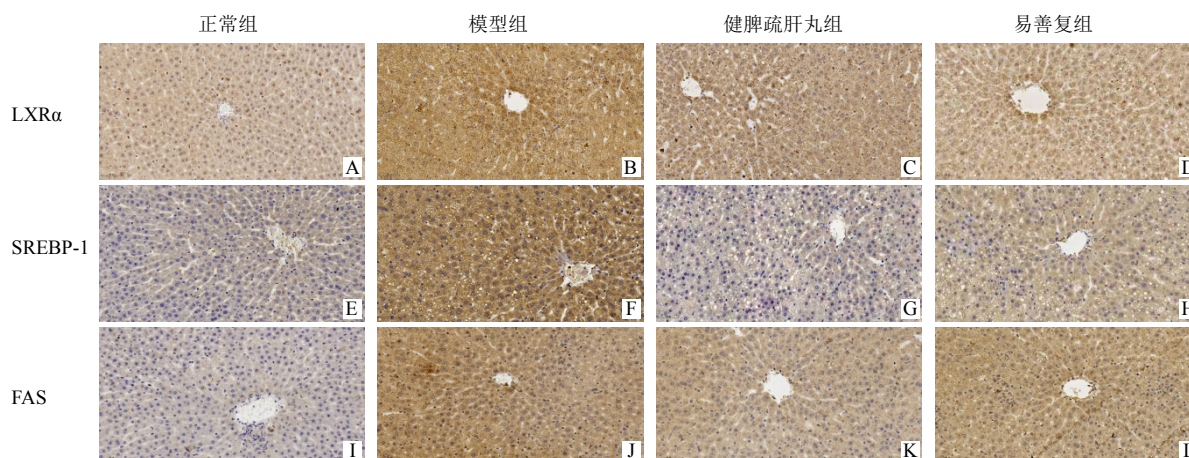


图3 正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠肝组织免疫组织化学染色( $\times 400$ )

注: 图 A ~ L 示 LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS 蛋白染色阳性物质广泛分布在细胞浆中

表3 免疫组织化学染色检测正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠肝组织 LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS 蛋白相对表达水平( $\bar{x} \pm s$ )

组别	LXR $\alpha$	SREBP-1	FAS
正常组( $n=8$ )	345872 $\pm$ 52737	259408 $\pm$ 71143	201683 $\pm$ 48205
模型组( $n=8$ )	544998 $\pm$ 55506 <sup>a</sup>	538701 $\pm$ 62336 <sup>a</sup>	466884 $\pm$ 74934 <sup>a</sup>
健脾疏肝丸组( $n=8$ )	436319 $\pm$ 65076 <sup>ab</sup>	399705 $\pm$ 102395 <sup>ab</sup>	425589 $\pm$ 63672 <sup>ab</sup>
易善复组( $n=8$ )	448588 $\pm$ 104641 <sup>abc</sup>	394167 $\pm$ 158047 <sup>abc</sup>	417852 $\pm$ 84373 <sup>abc</sup>
F值	30.27	28.12	72.49
P值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: 与正常组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与健脾疏肝丸组相比, <sup>c</sup> $P > 0.05$

表4 Western blot 检测正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠肝组织 LXRα、SREBP-1、FAS 蛋白相对表达水平

组别	LXRα <sup>*</sup>	SREBP-1 ( $\bar{x} \pm s$ )	FAS ( $\bar{x} \pm s$ )
正常组 (n = 8)	0.80 ± 0.29	0.42 ± 0.12	0.43 ± 0.12
模型组 (n = 8)	1.57 ( 1.30, 1.67 ) <sup>a</sup>	1.15 ± 0.45 <sup>a</sup>	1.10 ± 0.40 <sup>a</sup>
健脾疏肝丸组 (n = 8)	1.09 ± 0.30 <sup>b</sup>	0.86 ± 0.20 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.26 <sup>a</sup>
易善复组 (n = 8)	1.10 ± 0.36 <sup>bc</sup>	0.84 ± 0.20 <sup>ac</sup>	0.80 ± 0.28 <sup>ac</sup>
统计量值	$z = 14.4403$	$F = 9.54$	$F = 7.53$
P值	0.0024	0.0024	0.0008

注：与正常组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与模型组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$ ；与健脾疏肝丸组相比，<sup>c</sup> $P > 0.05$ ；\*符合正态分布的数据以  $\bar{x} \pm s$  表示，不符合正态分布的数据以  $M (p_{25}, p_{75})$  表示

表5 正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠肝组织 LXRα、SREBP-1、FAS mRNA 相对表达量

组别	LXRα	SREBP-1	FAS
正常组 (n = 8)	1.13 ± 0.38	1.46 ± 0.51	1.37 ± 0.49
模型组 (n = 8)	4.14 ( 4.01, 4.35 ) <sup>a</sup>	6.13 ± 1.17 <sup>a</sup>	4.35 ± 1.97 <sup>a</sup>
健脾疏肝丸组 (n = 8)	2.65 ± 1.85 <sup>ab</sup>	3.82 ± 2.06 <sup>ab</sup>	1.98 ( 1.88, 3.22 ) <sup>ab</sup>
易善复组 (n = 8)	1.35 ( 0.54, 4.23 ) <sup>abc</sup>	1.56 ( 1.19, 4.74 ) <sup>abc</sup>	1.83 ( 1.64, 4.29 ) <sup>abc</sup>
z值	5.69	10.14	9.19
P值	0.0036	0.0001	0.0002

注：与正常组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与模型组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$ ；与健脾疏肝丸组相比，<sup>c</sup> $P > 0.05$ ；表中符合正态分布的数据以  $\bar{x} \pm s$  表示，不符合正态分布的数据以  $M (p_{25}, p_{75})$  表示

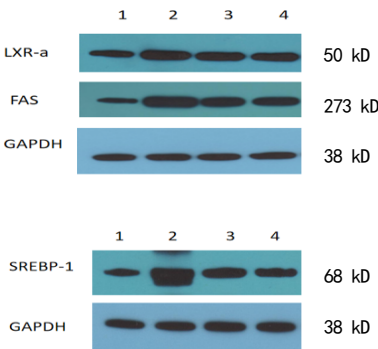


图4 正常组、模型组、健脾疏肝丸组和易善复组大鼠肝组织 LXRα、SREBP-1、FAS 蛋白的 Western blot 图

注：1 为正常组；2 为模型组；3 为健脾疏肝丸组；4 为易善复组

3 讨论

近年来，NAFLD发病的分子机制中，许多关键性调控因子的作用已逐渐阐明。LXRα主要表达于肝脏及脂肪组织中，胆固醇和葡萄糖可上调肝细胞内LXRα水平<sup>[10]</sup>。高脂饮食致NAFLD小鼠中LXRα mRNA和蛋白表达均升高<sup>[11]</sup>，LXRα过量表达可激活调控脂肪代谢的重要靶基因（SREBP-1）及控制脂肪酸合成的重要调节因子FAS，生成过量脂肪酸聚集于肝脏，导致NAFLD的发生<sup>[12]</sup>。SREBP-1主要存在于肝细胞内质网与核膜上，在调节脂质代谢和糖代谢方面具有重要作用<sup>[13]</sup>。瘦素缺乏的ob/ob小鼠常被用于代谢研究，该模型的典型特征是胰岛素抵抗和严重肥胖，此类小鼠SREBP-1激活明显，肝脏呈严重脂肪性病变，当敲

除ob/ob小鼠SREBP-1基因后，肝脏TG含量较未敲除小鼠下降50%，提示SREBP-1极大地促进了NAFLD的形成<sup>[14]</sup>。FAS是促使脂肪酸合成的关键一步，其表达受其上游核转录因子SREBP-1的调控，下调NAFLD大鼠SREBP-1和FAS基因的表达，可减轻脂肪酸诱导的氧化应激和肝脏脂肪堆积<sup>[15]</sup>。有研究表明，与非NAFLD患者对比，NAFLD患者肝脏LXR、SREBP-1及FAS mRNA和蛋白表达均升高<sup>[16]</sup>，与动物实验表现一致，提示LXR、SREBP-1、FAS也可能调控人类肝脏脂肪代谢。

NAFLD归属于中医“肝积”、“胁痛”、“积聚”范畴，肝郁脾虚是NAFLD的病理基础，该病多因饮食不节导致脾胃功能受损，肝气郁滞不畅，痰、湿、食久郁化热扰肝，阻滞肝脉所致，治以健脾疏肝，理气化痰，清热活血。健脾疏肝丸是本院院内制剂，临床应用20余年，方中党参、当归可调节人体胆汁酸和脂肪酸水平，具有保肝、抗炎作用<sup>[17,18]</sup>；陈皮中的多甲氧基黄酮和橙皮苷成分有降脂作用，其中橙皮苷能显著降低NAFLD大鼠血清ALT、游离脂肪酸和IL-6水平，提高超氧化物歧化酶水平，抑制肝细胞凋亡，可效防止脂肪肝的发生<sup>[19,20]</sup>；薏苡仁和山药降血脂效果均较好<sup>[21,22]</sup>，香橼和砂仁具有一定的抗氧化作用<sup>[23,24]</sup>；赤芍可通过调节肝组织丙二醛和活性氧含量而避免肝氧化损伤，且降酶效果显著<sup>[25,26]</sup>；苍术可加强大鼠小肠推进功能并促进胃泌素分泌，改善脾虚症状<sup>[27]</sup>；郁金可降低急性肝损伤小鼠血清

ALT和AST水平, 还可通过调节机体脂质代谢和氨基酸代谢达到活血化瘀的功效<sup>[28,29]</sup>; 香附的乙酸乙酯部位可降低血液中血浆纤维蛋白原含量和血液黏度, 具有活血化瘀作用<sup>[30]</sup>。健脾疏肝丸可明显缓解NAFLD患者乏力、腹胀及肝区不适等症状, 可促进患者血清ALT、AST、血脂及腹部超声等指标的复常<sup>[31]</sup>。

本研究经8周高脂饲料饲养, NAFLD大鼠造模成功, 其ALT、AST、血脂及炎症因子等指标显著升高, 肝组织病理显示大量脂滴生成, 脂肪性病变严重, 提示造模成功。易善复(多烯磷脂酰胆碱)作为指南推荐治疗脂肪肝的一线用药, 临床上已应用多年, 其可调节肝脏能量代谢, 加速肝细胞内的脂肪分解, 恢复肝功能。本研究以易善复为对比, 探讨健脾疏肝丸治疗NAFLD大鼠的作用机制。结果表明, 模型组大鼠LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS mRNA及蛋白表达水平较正常组显著升高, 提示高脂饮食可能通过激活LXR $\alpha$ -SREBP-1-FAS信号转导通路导致NAFLD, 与之前研究结果一致<sup>[32]</sup>。健脾疏肝丸组LXR $\alpha$ 、SREBP-1、FAS mRNA及蛋白的表达水平均较模型组降低, 提示健脾疏肝丸治疗NAFLD的机制可能与抑制LXR $\alpha$ -SREBP-1-FAS信号转导通路激活有关, 但健脾疏肝丸是直接阻碍该信号转导通路还是通过其他有关调控因子或通路间接阻碍尚需进一步研究。

## 参考文献

- [1] 石翠翠, 范建高. 美国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南解读[J]. 实用肝脏病杂志, 2017, 20(5): 646-648.
- [2] 李杰. 健脾疏肝丸联合水飞蓟宾胶囊治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2010.
- [3] 李杰, 王新月. 健脾疏肝丸联合水飞蓟宾胶囊治疗非酒精性脂肪性肝炎临床观察[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(1): 68-69.
- [4] BERLANGA A, GUIU-JURADO E, PORRAS J A, et al. Molecular pathways in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Clin Exp Gastroenterol, 2014; 221-239.
- [5] LIU Y, QIU D K, XIONG M A. Liver X receptors bridge hepatic lipid metabolism and inflammation[J]. J Dig Dis, 2012, 13(2): 69-74.
- [6] Chen G X, Liang G S, Ou J F, et al. Central role for liver X receptor in insulin-mediated activation of Srebp-1c transcription and stimulation of fatty acid synthesis in liver[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(31): 11245-11250.
- [7] JIDEONWO V, HOU Y Y, AHN M, et al. Impact of silencing hepatic SREBP-1 on insulin signaling[J]. PLoS One, 2018, 13(5): e0196704.
- [8] 熊远珍. 实验动物与人用药量的新换算[J]. 江西医学院学报, 1997, (4): 41.
- [9] 陈丽如, 张立平, 刘源, 等. 柴芪汤对非酒精性脂肪肝大鼠固醇调节元件结合蛋白-1c表达的影响[J]. 西部中医药, 2016, 29(12): 13-17.
- [10] MITRO N, MAK P A, VARGAS L, et al. The nuclear receptor LXR is a glucose sensor[J]. Nature, 2007, 445(7124): 219-213.
- [11] YAN C X, ZHANG Y R, ZHANG X X, et al. Curcumin regulates endogenous and exogenous metabolism via Nrf2-FXR-LXR pathway in NAFLD mice[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 105: 274-281.
- [12] PAN Y X, ZHUO M Q, LI D D, et al. SREBP-1 and LXR $\alpha$  pathways mediated Cu-induced hepatic lipid metabolism in zebrafish Danio rerio[J]. Chemosphere, 2019, 215: 370-379.
- [13] GOSMAIN, Y. DIF N, BERBE V, et al. Regulation of SREBP-1 expression and transcriptional action on HKII and FAS genes during fasting and refeeding in rat tissues[J]. J Lipid Res, 2005, 46(4): 697-705.
- [14] MOON Y A. The SCAP/SREBP pathway: a mediator of hepatic steatosis[J]. Endocrinol Metab (Seoul), 2017, 32(1): 6-10.
- [15] SHI L J, SHI L, SONG G Y, et al. Oxymatrine attenuates hepatic steatosis in non-alcoholic fatty liver disease rats fed with high fructose diet through inhibition of sterol regulatory element binding transcription factor 1 (Srebf1) and activation of peroxisome proliferator activated receptor alpha (Ppar $\alpha$ )[J]. Eur J Pharmacol, 2013, 714(1-3): 89-95.
- [16] YANG Z X, SHEN W, SUN H. Effects of nuclear receptor FXR on the regulation of liver lipid metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Hepatol Int, 2010, 4(4): 741-748.
- [17] 崔龙海, 韩龙哲, 韩春姬. 轮叶党参总皂苷对肝脏缺血-再灌注大鼠肝肾损伤的保护作用[J]. 中药材, 2019, 42(8): 1903-1906.
- [18] OH H A, LEE H, PARK S Y, et al. Analysis of plasma metabolic profiling and evaluation of the effect of the intake of Angelica keiskei using metabolomics and lipidomics[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 243: 112058.
- [19] 王焱, 李俊, 王保伟. 橙皮苷对非酒精性脂肪肝大鼠的保护作用及其机制的初探[J]. 安徽医科大学学报, 2010, 45(5): 646-650.
- [20] 俞静静, 苏洁, 颜美秋, 等. 陈皮降脂药效与黄酮类成分的相关性研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(15): 3335-3342.
- [21] 罗云云, 杜伟峰, 康显杰, 等. 薏苡仁历史应用概况及现代研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(12): 5666-5673.
- [22] 李晓冰, 裴兰英, 陈玉龙, 等. 山药多糖对链脲菌素糖尿病大鼠糖脂代谢及氧化应激的影响[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(2): 420-422.
- [23] 徐丽珊, 王利枝, 江震宇. 佛手与香橼、柠檬、柑桔挥发油的成分及抑菌和清除DPPH自由基作用比较[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2018, 41(1): 84-91.
- [24] 邹晓红, 曹聘, 曾元儿, 等. 不同产地砂仁总酚测定及抗氧化活性比较[J]. 中国现代中药, 2018, 20(7): 811-815.
- [25] ZHAO Y, ZHOU G D, WANG J B, et al. Paeoniflorin protects against ANIT-induced cholestasis by ameliorating oxidative stress in rats[J]. Food Chem Toxicol, 2013, 58: 242-248.
- [26] 罗琳, 窦志华, 吴峰, 等. 赤芍总苷退黄降酶的作用及机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(4): 285-288.
- [27] 涂济源, 刘艳菊, 肖波, 等. 苍术麸炒前后正丁醇部位燥湿健脾药效及关键成分研究[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(7): 2949-2953.
- [28] 兰凤英, 何静春, 赵颖, 等. 郁金抗四氯化碳致小鼠急性肝损伤的作用[J]. 中国康复理论与实践, 2007, 13(5): 444-445, 封3.
- [29] HAO M, JI D, LI L, et al. Mechanism of Curcuma wenyujin Rhizoma on acute blood stasis in rats based on a UPLC-Q/TOF-MS metabolomics and network approach[J]. Molecules, 2018, 24(1): 82.
- [30] 季宁平, 周莉江, 严鑫, 等. 醋制香附不同提取部位对肝郁血瘀模型大鼠的影响[J]. 中药与临床, 2017, 8(2): 57-60.
- [31] 李杰, 刘汶, 戚团结. 健脾疏肝丸联合易善复胶囊治疗非酒精性脂肪性肝炎33例[J]. 北京中医药, 2009, 28(10): 806-807.
- [32] 陈丽如. 青年非酒精性脂肪性肝病的临床回顾性研究及柴芪汤对大鼠脂肪肝的作用机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.

收稿日期: 2019-10-13

朱达, 孙凤霞, 李晓玲, 等. 健脾疏肝丸对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝X受体 $\alpha$ -固醇调节元件结合蛋白-1-脂肪酸合成酶信号转导通路的影响[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2020, 12(2): 60-67.