雷公藤红素对蛋氨酸-胆碱缺乏饮食致小鼠NASH的干预作用及机制研究Δ

饶　辉[1*]，盛　磊[1]，吴丹妮[1]，吴　勇[1]，胡俊杰[1]，郑国华[2]，王桂红[1#]（1.湖北中医药大学药学院，武汉　430065；2.湖北中医药大学中药资源与中药复方教育部重点实验室，武汉　430065）

中图分类号　R965；R966　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2021）01-0024-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2021.01.05

摘　要　目的：研究雷公藤红素对蛋氨酸-胆碱缺乏（MCD）饮食致小鼠非酒精性脂肪性肝炎（NASH）的干预作用及可能机制。方法：将雄性C57BL/6J小鼠随机分为正常对照组、模型组和雷公藤红素低、高剂量组[0.5、1 mg/（kg·d）]，每组7只。正常对照组小鼠给予蛋氨酸-胆碱充足饮食，模型组和给药组小鼠给予MCD饮食以复制NASH模型；与此同时，正常对照组和模型组小鼠灌胃聚氧乙烯蓖麻油，各药物组小鼠灌胃相应药物，灌胃体积均为0.1 mL/g，每日1次，连续4周。观察各组小鼠肝脏形态，并采用苏木精-伊红染色和油红O染色法观察其肝组织的病理学变化；采用酶法检测血清肝酶[天冬氨酸转氨酶、丙氨酸转氨酶]、血清和肝组织中脂质指标[总胆固醇（TC）、三酰甘油（TG）]水平；采用Western blotting法检测小鼠肝组织中核因子κB p65（NF-κB p65）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素6（IL-6）的蛋白表达水平。结果：与正常对照组比较，模型组小鼠肝脏体积缩小且颜色泛黄，表面粗糙，肝组织中可见炎性细胞浸润以及脂肪空泡、脂滴聚集；其血清TC、TG水平均显著降低，血清肝酶水平以及肝组织中TG水平和NF-κB p65、TNF-α、IL-6蛋白表达水平均显著升高（$P<0.01$）。与模型组比较，各药物组小鼠肝脏表面红润光滑，无褐色斑点，肝组织中炎性细胞、脂肪空泡有所减少，脂滴覆盖面积有所缩小；其血清TC、TG水平均显著升高，血清肝酶水平以及肝组织中TG水平和NF-κB、TNF-α、IL-6（雷公藤红素低剂量组除外）的蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。结论：雷公藤红素能改善MCD饮食致NASH模型小鼠的肝损伤，其作用与减少肝组织中TG堆积、抑制炎症相关因子表达有关。

关键词　雷公藤红素；蛋氨酸-胆碱缺乏饮食；非酒精性脂肪性肝炎；机制；小鼠

Intervention Effect and Mechanism of Celastrol on NASH Induced by Methionine-choline Deficiency Diet in Mice

RAO Hui[1], SHENG Lei[1], WU Danni[1], WU Yong[1], HU Junjie[1], ZHENG Guohua[2], WANG Guihong[1]（1. College of Pharmacy, Hubei University of TCM, Wuhan 430065, China; 2. Key Lab of TCM Resources and TCM Compounds, Ministry of Education, Hubei University of TCM, Wuhan 430065, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE: To study the intervention effects and potential mechanism of celastrol on non-alcoholic steatohepatitis (NASH) induced by methionine-choline deficiency (MCD) diet. METHODS: Male C57BL/6J mice were randomly divided into normal control group, model group, celastrol low-dose and high-dose groups [0.5, 1 mg/(kg·d)], with 7 mice in each group. The normal control group was given a methionine-choline sufficient diet, while the model group and administration groups were fed an MCD diet to induce NASH model. At the same time, normal control group and model group were given polyoxyethylene castor oil intragastrically; administration groups were given relevant drugs intragastrically; the volume of gavage was 0.1 mL/g, once a day, for consecutive 4 weeks. The liver morphology was observed, and the pathological changes of liver tissue were observed by HE staining and oil red O staining. The levels of serum liver enzymes (AST, ALT), and the levels of lipid indexes (TC, TG) in serum and liver tissue were detected by enzyme method. The protein expression of NF-κB p65, TNF-α and IL-6 in liver tissue were determined by Western blotting assay. RESULTS: Compared with normal control group, the volume of the liver was reduced and the color was yellow, and the surface was rough in model group; inflammatory cell infiltration, fat vacuoles and lipid droplets aggregation were found in the liver tissue; the serum levels of TC and TG were significantly decreased, the levels of serum liver enzymes and protein expression of NF-κB p65, TNF-α and IL-6 in liver tissue were significantly increased ($P<0.01$). Compared with model group, the liver surface of each administration group was ruddy and smooth without brown spots, the inflammatory cells and fat vacuoles in liver tissue were reduced, and the coverage area of lipid droplets was reduced; the levels of serum TC and TG were significantly increased, the levels of serum liver enzymes, the levels of TG and protein expression of NF-κB, TNF-α and IL-6 (except for celastrol low-dose group) in liver tissue were significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). CONCLUSIONS: Celastrol can improve the liver injury of NASH model mice induced by MCD diet, which is related to the reduction of TG accumulation in liver tissue and inhibition of the expression of inflammatory related factors.

KEYWORDS　Celastrol; Methionine-choline deficiency diet; Non-alcoholic steatohepatitis; Mechanims; Mice

Δ 基金项目：国家自然科学基金资助项目（No.81602424）

* 硕士研究生。研究方向：中药新制剂、新剂型。E-mail：2586200406@qq.com

通信作者：主任药师，硕士生导师。研究方向：中药新制剂、新剂型。E-mail：843773585@qq.com

非酒精性脂肪肝病（Non-alcoholic fatty liver disease，NAFLD）是指排除过量饮酒等明确肝损伤因素，以肝细胞内脂肪过度沉积为特征的临床病理综合征[1]，其疾病谱包括非酒精性单纯性脂肪肝（NAFL）、非酒精性脂肪性肝炎（NASH）和脂肪性肝硬化。其中，NASH是NAFL发展为脂肪性肝硬化的重要过渡阶段[2]。据统计，约30%～40%的NASH患者合并有肝脏纤维化，10%～15%的NASH患者可发展为肝硬化，而约9%～26%的NASH合并肝硬化的患者在随访的4～10年内死亡；此外，NASH发病机制复杂，严重情况下可发展为肝癌[3-4]。目前，NASH的防治重点为控制饮食和加强运动[5]，临床尚无疗效确切的防治药物，现有药物大多只能发挥辅助作用，且临床应用有所局限[1]。因此，如何有效防治NASH已成为广受关注的肝病医学难题[6-7]。

雷公藤红素（Celastrol）是来源于卫矛科植物雷公藤*Tripterygium wilfordii* Hook. f.的一种醌甲基三萜类化合物，具有抗炎、抑制免疫、抗肿瘤等药理作用[8]。近年来，冯泽民等[9]研究发现，雷公藤红素能通过调节脂质合成及氧化反应来降低HepG2细胞中三酰甘油（TG）的水平；在进一步的动物实验中，有学者发现，雷公藤红素能通过调控肝脏脂质代谢来改善高脂饮食诱导小鼠的NAFLD[10]。因此，综合其抗炎和调节脂质代谢的作用，笔者推测该化合物对NASH（即NAFLD较为严重的阶段）具有一定的防治作用；同时，在常用的蛋氨酸-胆碱缺乏（MCD）饮食诱导的NASH动物模型中，有关雷公藤红素的治疗作用及其机制也未见相关报道。基于此，本研究通过MCD诱导构建NASH小鼠模型，考察预防性使用雷公藤红素对小鼠相关指标的影响及可能机制，以期为该化合物防治NASH提供理论依据，促进其资源的进一步开发和利用。

1 材料

1.1 仪器

VCX750型超声波破碎仪（美国Sonics公司）；CKX31型倒置显微镜（日本Olympus公司）；Trans-Blot Turbo™型全能型蛋白转膜仪、Power Pac Basic型电泳仪、xMark型全波长酶标仪（美国Bio-Rad公司）；Allegra 64R型高速冷冻离心机（美国Beckman Coulter公司）；XB220A型分析天平（瑞士Precisa公司）；GBOX型成像分析系统（美国Syngene公司）；Vortex-Genie2型漩涡混合器（美国Scientific Industries公司）。

1.2 药品与试剂

雷公藤红素原料药（成都普思生物科技股份有限公司，批号：PS161108-01，纯度：＞98%）；聚氧乙烯蓖麻油（上海阿拉丁生化科技有限公司，批号：C107105）；0.9%氯化钠注射液（河南科伦药业有限公司，批号：C16091602-1，规格：500 mL∶4.5 g；作生理盐水用）；鼠源甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）单克隆抗体（美国Proteintech公司，批号：HRP-60004）；鼠源核因子κB p65（NF-κB p65）单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗（美国CST公司，批号分别为6959、7074）；兔源肿瘤坏死因子α（TNF-α）多克隆抗体、兔源白细胞介素6（IL-6）多克隆抗体、通用型组织固定液（武汉塞维尔生物科技有限公司，批号分别为GB13188-1、GB11117、G1101）；总胆固醇（TC）、TG、天冬氨酸转氨酶（AST）、丙氨酸转氨酶（ALT）检测试剂盒（南京建成生物工程研究所，批号分别为A111-1-1、A110-1-1、C010-2、C009-2）；BCA蛋白定量试剂盒、ECL超敏化学发光液、M-PER™哺乳动物蛋白抽提试剂（美国Thermo Fisher Scientific公司，批号分别为23227、34580、78501）；蛋白酶抑制剂（北京康为世纪生物科技有限公司，批号：40417）；十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）试剂盒（美国EpiZyme Scientific公司，批号：18D250）；四甲基乙二胺（TEMED，美国Amresco公司，批号：110-18-9）；苏木精-伊红（HE）染色试剂盒、油红O染色液（北京索莱宝科技有限公司，批号分别为G1121、G1260）；其余试剂为分析纯或实验室常用规格，水为去离子水。

1.3 动物

SPF级野生型C57BL/6J小鼠，雄性，6周龄，体质量20～25 g，购自湖北省实验动物研究中心，动物使用许可证号：SCXK（鄂）2015-0018。蛋氨酸-胆碱充足（MCS）和MCD饮食均由江苏南通特洛菲饲料科技有限公司提供。所有小鼠均饲养于SPF屏障环境中。本研究操作均符合湖北中医药大学动物实验的相关规定。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

将28只小鼠随机分为4组，即正常对照组、模型组和雷公藤红素低、高剂量组，每组7只。对照组小鼠给予MCS饮食，其余各组小鼠给予MCD饮食以复制NASH模型；与此同时，雷公藤红素低、高剂量组小鼠按0.5、1 mg/（kg·d）（以聚氧乙烯蓖麻油为溶剂，剂量设置参考本课题组前期预实验结果）灌胃相应药物，正常对照组和模型组小鼠均灌胃聚氧乙烯蓖麻油。灌胃体积均为0.1 mL/g，每日1次，连续4周。

2.2 样本采集

末次给药后，各组小鼠均禁食、不禁水12 h，摘取一侧眼球取血。血样于冰浴中静置0.5 h后以2 000 r/min离心5 min，分离血清，备用。取血后颈部脱臼处死小鼠，剥离完整的肝脏，用生理盐水洗净后，观察并记录肝脏的外观形态。随机选取肝组织适量，置于组织固定液中固定，剩余肝组织置于－80 ℃冰箱保存，备用。

2.3 肝组织病理学观察

取固定于组织固定液中的肝组织适量，经常规石蜡包埋后切片（厚度约4 μm），分别用HE、油红O染色后，置于显微镜下观察其病理学变化。

2.4 血清和肝组织生化指标检测

取血清样品和冻存的肝组织样品各适量，按照试剂盒方法（酶法）以酶标仪检测各组小鼠血清中AST、ALT水平以及血清和肝组织中TC、TG水平，严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.5 肝组织中NF-κB p65、TNF-α、IL-6蛋白表达情况的检测

采用Western blotting法检测。取冻存的肝组织适量，加入适量蛋白裂解液和蛋白酶抑制剂，超声（频率：20 kHz，功率：750 W）10 s破碎，冰浴裂解0.5 h，以1 000 r/min离心8 min，取上清液，用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白含量。取蛋白于95 ℃加热变性5 min，取变性后的蛋白样品120 μg行SDS-PAGE后，转移至PVDF膜上，用5%脱脂牛奶封闭1 h；分别加入NF-κB p65、TNF-α、IL-6一抗（稀释度均为1∶1 000），于4℃孵育过夜；用TBST溶液清洗8 min×3次，加入二抗（稀释度为1∶3 000）和GAPDH抗体（稀释度为1∶8 000），室温孵育1 h；用TBST溶液清洗8 min×3次，经ECL化学发光液显色后，于成像分析系统上成像并使用Image J 1.8.0软件分析。以目标蛋白与内参（GAPDH）条带的灰度值比值作为目标蛋白的表达水平。上述操作重复3～5次。

2.6 统计学方法

采用GraphPad Prism 5.0软件对数据进行统计分析。所有数据均以$\bar{x} \pm s$表示，组间比较采用非配对t检验。$P<0.05$表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 雷公藤红素对小鼠肝脏形态及肝组织病理学变化的影响

正常对照组小鼠肝脏表面光滑，鲜红，有光泽；HE染色显示，肝细胞排列整齐且形态正常；油红O染色未见脂滴聚集。模型组小鼠肝脏体积明显缩小，表面粗糙，颜色泛黄，无光泽，缀有褐色斑点；HE染色显示，其肝组织中可见炎性细胞浸润，同时可见许多大的脂肪空泡聚集，脂肪化严重；油红O染色显示，其肝组织中有大量脂滴聚集。与模型组比较，经雷公藤红素预处理后，各药物组小鼠肝脏表面光滑、红润，无褐色斑点；HE染色显示，其肝组织炎性细胞浸润和脂肪空泡均有所减少或缩小；油红O染色显示，其肝组织中脂滴覆盖面积有所缩小，详见图1。

3.2 雷公藤红素对小鼠血清AST、ALT水平的影响

与正常对照组比较，模型组小鼠血清中AST、ALT水平均显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，各药物组小

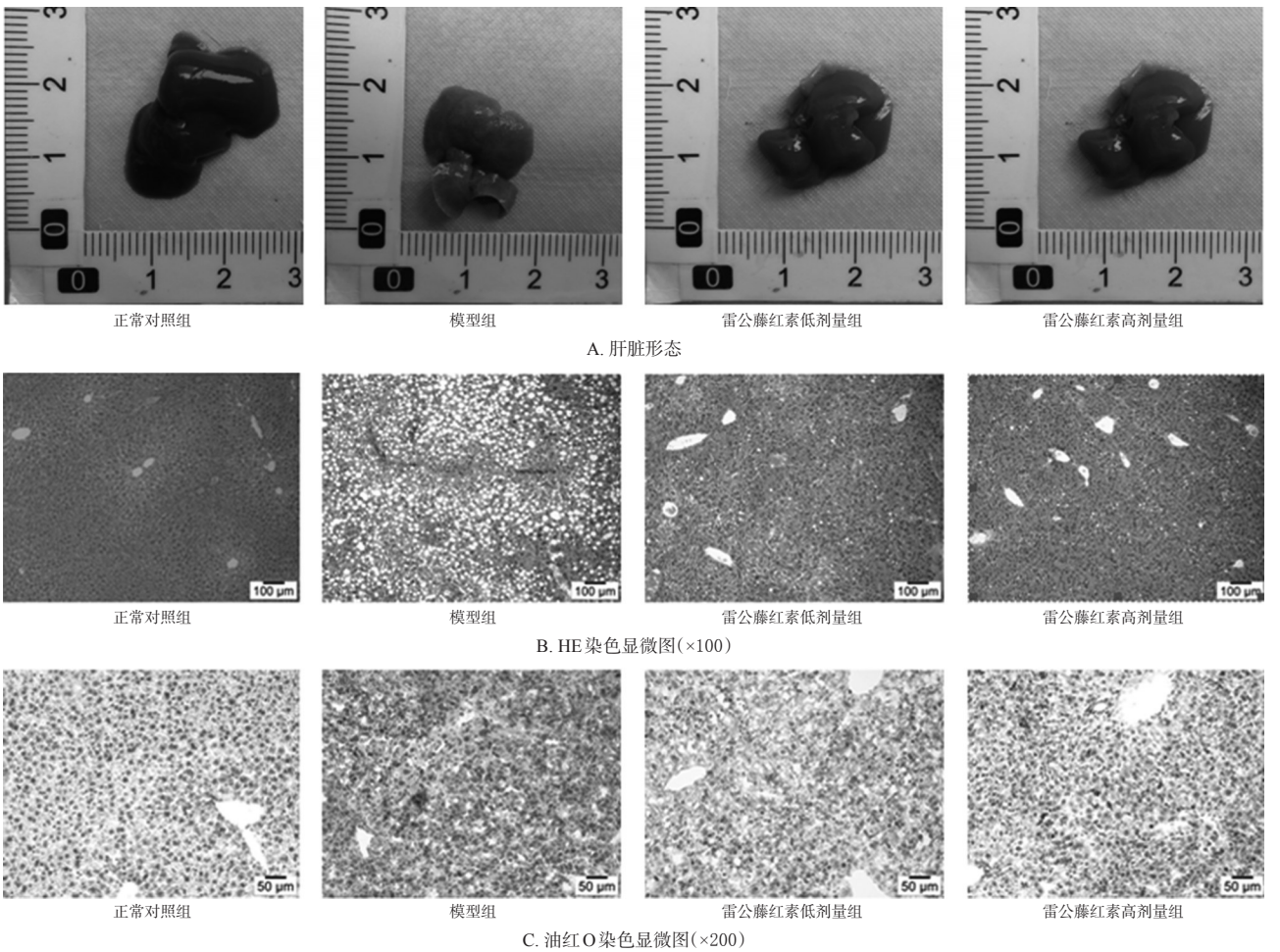


图1 雷公藤红素对小鼠肝脏形态及肝组织病理学变化的影响

Fig 1 Effects of celastrol on morphology and pathological changes of liver tissue in mice

鼠血清中AST、ALT水平均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$），详见表1。

表1　雷公藤红素对小鼠血清中AST、ALT水平的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

Tab 1　Effects of celastrol on serum levels of AST and ALT in mice（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

组别	剂量，mg/（kg·d）	AST，U/L	ALT，U/L
正常对照组		22.79±5.93	6.28±4.92
模型组		64.49±11.82**	174.28±41.99**
雷公藤红素低剂量组	0.5	26.90±4.34##	68.01±8.00#
雷公藤红素高剂量组	1	28.80±4.44##	69.11±7.13#

注：与正常对照组比较，**$P<0.01$；与模型组比较，#$P<0.05$，##$P<0.01$

Note：vs. normal control group，**$P<0.01$；vs. model group，#$P<0.05$，##$P<0.01$

3.3　雷公藤红素对小鼠血清和肝组织中TC、TG水平的影响

与正常对照组比较，模型组小鼠血清中TC、TG水平均显著降低（$P<0.01$），肝组织中TG水平显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，各药物组小鼠血清中TC、TG水平均显著升高，肝组织中TG水平均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$），且其血清TC、TG水平和肝组织TG水平分别有随剂量增加而升高或降低的趋势，详见表2。

表2　雷公藤红素对小鼠血清和肝组织中TC、TG水平的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

Tab 2　Effects of celastrol on TC and TG levels in serum and liver tissues of mice（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

组别	剂量，mg/（kg·d）	血清，mmol/L		肝组织，μmol/g prot	
		TC	TG	TC	TG
正常对照组		6.24±0.18	1.54±0.24	32.75±7.80	55.75±0.66
模型组		2.13±0.24**	0.53±0.04**	31.02±2.62	339.10±49.37**
雷公藤红素低剂量组	0.5	3.12±0.38#	0.85±0.12#	30.40±6.95	85.19±9.63##
雷公藤红素高剂量组	1	4.33±0.57##	1.07±0.19##	34.24±5.25	61.80±17.49##

注：与正常对照组比较，**$P<0.01$；与模型组比较，#$P<0.05$，##$P<0.01$

Note：vs. normal control group，**$P<0.01$；vs. model group，#$P<0.05$，##$P<0.01$

3.4　雷公藤红素对小鼠肝组织中NF-κB p65、TNF-α、IL-6蛋白表达的影响

与正常对照组比较，模型组小鼠肝组织中NF-κB p65、TNF-α、IL-6的蛋白表达水平均显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，各药物组小鼠肝组织中NF-κB p65、TNF-α的蛋白表达水平以及雷公藤红素高剂量组小鼠肝组织中IL-6的蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$），详见图2、表3。

4　讨论

NAFLD是一种常见的慢性肝脏疾病，大约有1/3的单纯脂肪变性的NAFLD患者会发生NASH[11]。目前，NASH的造模方法各异，不同的动物模型中NASH的发病机制略有不同，生理病理特征也相差甚远，但都能模

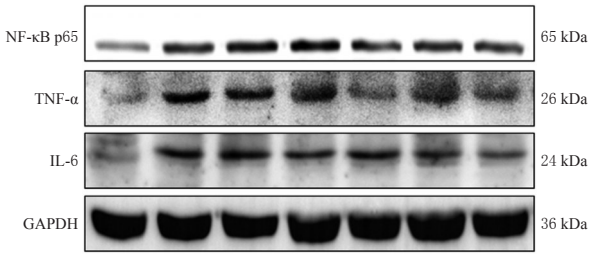


图2　雷公藤红素对小鼠肝组织中NF-κB p65、TNF-α和IL-6蛋白表达影响的电泳图

Fig 2　Electrophoretogram of the effects of celastrol on the expression of NF-κB p65，TNF-α and IL-6 in liver tissues of mice

表3　雷公藤红素对小鼠肝组织中NF-κB p65、TNF-α、IL-6蛋白表达水平的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

Tab 3　Effects of celastrol on protein expression of NF-κB p65，TNF-α and IL-6 in liver tissues of mice（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

组别	剂量，mg/（kg·d）	NF-κB p65	TNF-α	IL-6
正常对照组		0.288±0.004	0.331±0.023	0.119±0.007
模型组		0.491±0.002**	0.635±0.042**	0.361±0.003**
雷公藤红素低剂量组	0.5	0.382±0.003##	0.558±0.021#	0.343±0.005
雷公藤红素高剂量组	1	0.376±0.004##	0.410±0.033##	0.286±0.006##

注：与正常对照组比较，**$P<0.01$；与模型组比较，#$P<0.05$，##$P<0.01$

Note：vs. normal control group，**$P<0.01$；vs. model group，#$P<0.05$，##$P<0.01$

仿NASH患者部分显著性生理或病理学改变[12]。本研究采用了MCD饮食方法来建立小鼠NASH模型，此法诱发的病理改变与人类NASH相似[4]。与其余饮食模型相比，MCD模型更能模仿人类严重NASH的病理学改变，且造模2～3周即可形成NASH[11]。关于MCD饮食模型的“二次打击学说”认为，蛋氨酸和胆碱的缺乏会导致极低密度脂蛋白（VLDL）的合成和分泌受损，而VLDL是将肝细胞内TG运出的主要载体物质，因此使得TG滞留在肝细胞中沉积，构成了“第一次打击”，从而诱发肝脂肪变性[13]；与此同时，蛋氨酸和胆碱的缺乏也会导致肝内抗氧化屏障受损，促使脂质过氧化发生，从而加剧氧化应激反应，进一步使肝细胞结构和功能受损，构成了“第二次打击”[14-15]。许多研究表明，NF-κB炎症信号通路在NASH的发展过程中发挥了重要作用，其激活也加速了脂肪肝向NASH的转变[16-19]。本研究在小鼠体内成功复制了NASH模型，HE、红油O染色均显示，模型组小鼠肝脏体积明显缩小，表面粗糙且颜色泛黄，肝组织中可见炎性细胞浸润和脂肪堆积。与此同时，模型组小鼠肝组织中TG水平的显著升高提示其肝细胞内TG的聚集，炎症因子NF-κB p65、TNF-α、IL-6的高表达提示NF-κB炎症信号通路的激活，血清中高水平的AST、ALT

反映了较为严重的肝损伤。但本研究发现，模型组小鼠血清中TC、TG水平均有所下降，与人类NAFLD代谢表型不符，这也提示MCD饮食模型存在一定的缺陷。

雷公藤红素作为中药雷公藤的活性成分，由于其突出的抗肿瘤和抗炎作用成为近年来的研究热点[20]。有研究表明，雷公藤红素能通过影响脂代谢和NF-κB炎症信号通路来防治蛋白激酶B（Akt）/肝细胞生长因子受体c-Met共表达诱导的小鼠肝细胞癌（HCC），而NASH是HCC的重要诱发因素之一[21-22]，据此笔者推测雷公藤红素可能具有防治NASH的作用。基于此，本研究以MCD饮食小鼠为研究对象，初步考察了雷公藤红素对NASH相关指标的影响。结果显示，与模型组比较，雷公藤红素各剂量组小鼠肝脏表面光滑、红润，肝组织内脂肪泡面积缩小，炎性细胞浸润和脂质聚集均有所减少；与模型组比较，雷公藤红素各剂量组小鼠血清中TC、TG水平均显著升高，血清中AST、ALT水平和肝组织中TG水平均显著降低，肝组织中炎症因子NF-κB p65、TNF-α、IL-6（低剂量组除外）的蛋白表达水平均有不同程度的下调。这提示雷公藤红素能改善肝细胞内TG堆积，抑制炎性因子NF-κB、TNF-α、IL-6的表达，减轻肝损伤。

综上所述，雷公藤红素能改善MCD饮食致NASH模型小鼠的肝损伤，其作用与减少肝组织中TG堆积、抑制炎症相关因子表达有关。本研究为该化合物防治NASH提供了理论依据。由于目前尚无疗效确切的药物用于防治NASH[1]，故暂未找到兼具抗炎、降脂作用的单一药物作为阳性对照来综合比较雷公藤红素的效果；此外，后续亦有待对该化合物防治NASH的具体分子机制进行更为深入的探讨。

参考文献

[1] 王凤瑾.非酒精性脂肪性肝病诊断和防治进展[J].中外女性健康研究，2019(11)：25-26.

[2] 诸葛丽，苏冬梅，李健，等.姜黄素对小鼠非酒精性脂肪性肝炎炎症信号传导通路的调控作用[J].中西医结合肝病杂志，2011，21(6)：352-355.

[3] 刘骞.大黄素对蛋氨酸-胆碱缺乏饲料诱导的小鼠非酒精性脂肪肝炎的作用研究[D].西安：第四军医大学，2015.

[4] 苏冬梅，诸葛丽，李健，等.蛋氨酸-胆碱缺乏饮食诱导的非酒精性脂肪性肝炎小鼠模型的建立及动态监测[J].世界华人消化杂志，2011，19(11)：1122-1129.

[5] 孙凤娇，梁志刚，杨遵远，等.双能CT技术在恒河猴非酒精性脂肪性肝病中的应用价值[J].中国临床医学影像杂志，2018，29(11)：17-20.

[6] 张慧芹.小檗碱干预非酒精性脂肪性肝炎（NASH）的分子机制研究[D].北京：北京中医药大学，2014.

[7] 张伟，巴图得力根.中药防治非酒精性脂肪性肝炎的实验研究进展[J].中国民族民间医药杂志，2015，24(5)：36-38.

[8] 夏玲红，崔岚.雷公藤红素的药理作用研究进展[J].医药导报，2009，28(6)：730-732.

[9] 冯泽民，万星勇，虞朝辉，等.雷公藤红素通过调节脂质合成及氧化降低HepG2细胞甘油三酯水平的研究[J].传染病信息，2018，31(3)：227-230.

[10] 张印良.雷公藤红素调控肝脏脂代谢的研究[D].北京：北京协和医学院，2017.

[11] 陈艳珍，陈成良，田兴，等.基于非酒精性脂肪性肝病机制及治疗的动物模型研究进展[J].临床肝胆病杂志，2017，33(12)：2457-2461.

[12] 王福根，梁伟峰，席建军，等.非酒精性脂肪性肝炎动物模型的建立与应用[J].中国临床药理学与治疗学，2015，20(7)：835-840.

[13] 欧强，杨华，赵亚娟，等.蛋氨酸-胆碱缺乏饮食诱导的大、小鼠非酒精性脂肪性肝病模型的特点及差异[J].肝脏，2017，22(10)：933-937.

[14] 潘良盈，赵曙光.非酒精性脂肪性肝病鼠科动物模型研究进展[J].肝脏，2015，20(5)：412-414.

[15] CABALLERO F，FERNÁNDEZ A，MATÍAS N，et al. Specific contribution of methionine and choline in nutritional nonalcoholic steatohepatitis：impact on mitochondrial S-adenosyl-L-methionine and glutathione[J]. J Biol Chem，2010，285(24)：18528-18536.

[16] 孙婷婷，李京涛，魏海梁，等. TNF-α/NF-κB信号通路调控非酒精性脂肪性肝病的研究现状[J].临床肝胆病杂志，2019，35(9)：2095-2098.

[17] CAO M，LI X，ZHANG B，et al. The effect of polyene phosphatidyl choline intervention on nonalcoholic steatohepatitis and related mechanism[J]. Am J Transl Res，2016，8(5)：2325-2330.

[18] MA Z，CHU L，LIU H，et al. Paeoniflorin alleviates nonalcoholic steatohepatitis in rats：involvement with the ROCK/NF-κB pathway[J]. Int Immunopharmacol，2016. DOI：10.1016/j.intimp.2016.06.023.

[19] PENG CH，LIN HT，CHUNG DJ，et al. Mulberry leaf extracts prevent obesity-induced NAFLD with regulating adipocytokines，inflammation and oxidative stress[J]. J Food Drug Anal，2018，26(2)：778-787.

[20] 刘文成，谭布珍，方玉婷，等.植物雷公藤主要抗癌抗炎活性成分研究进展[J].中国临床药理学与治疗学，2017，22(3)：355-360.

[21] 胡俊杰. Akt/c-Met共表达诱导肝细胞癌形成的作用机制及雷公藤红素的干预作用研究[D].武汉：湖北中医药大学，2018.

[22] 李歆.雷公藤红素调控NF-κB信号通路抑制Akt/c-Met诱导小鼠肝细胞癌作用机制初步研究[D].武汉：湖北中医药大学，2019.

（收稿日期：2020-05-27　修回日期：2020-08-31）
（编辑：张元媛）