

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.04.002

## 甘草甜素对体外诱导的酒精性脂肪肝细胞的影响及机制研究\*

卜晓芬<sup>1</sup>, 李 骏<sup>2</sup>, 朱 虹<sup>1△</sup>

(华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院:1 综合二科;2 重症医学科, 武汉 430000)

**[摘要]** **目的** 探讨甘草甜素对体外诱导的酒精性脂肪肝(AFL)肝细胞模型的影响及其可能的作用机制。**方法** 将体外诱导的 AFL 肝细胞分为对照组、脱离乙醇组、甘草甜素组和继续诱导组,检测细胞内三酰甘油(TG)水平,丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)的泄漏量、细胞周期变化,以及核受体超家族转录因子  $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ )、含有“碱性螺旋-环-螺旋-亮氨酸拉链”结构的核转录因子 1(SREBP-1)、固醇调节元件结合蛋白裂解激活蛋白(SCAP)的 mRNA 与蛋白表达。**结果** 甘草甜素可以明显减少细胞凋亡的发生;与对照组相比,甘草甜素组细胞内 TG 水平及 ALT、AST 的泄漏量、PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1 和 SCAP 蛋白及 mRNA 表达均明显降低( $P < 0.05$ )。**结论** 甘草甜素可能通过下调 PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP 的表达从而减轻体外诱导 AFL 肝细胞脂肪改变。

**[关键词]** 甘草甜素;三酰甘油;脂肪肝,酒精性;丙氨酸转氨酶;天冬氨酸转氨酶

**[中图分类号]** R575.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2018)04-0436-03

## Effects of glycyrrhizin on alcoholic fatty liver cells included in vitro and its mechanism\*

BU Xiaofen<sup>1</sup>, LI Jun<sup>2</sup>, ZHU Hong<sup>1△</sup>

(1. Second Department of Integration; 2. Department of Critical Care Medicine, Affiliated Wuhan Central Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of glycyrrhizin on the cell model of alcoholic fatty liver(AFL) induced in vitro and its possible mechanism. **Methods** The in vitro induced AFL cells were divided into the control group, separating ethanol group, glycyrrhizin group and continuous induction group. The levels of intracellular triglyceride(TG) and leakage amounts of ALT and AST, cell cycle change and protein and mRNA expressions of PPAR- $\gamma$ , SREBP-1 and SCAP were measured. **Results** Glycyrrhizin could obviously reduce the apoptosis occurrence; compared with the control group, the level of intracellular TG and the leakage amounts of ALT and AST, and the protein and mRNA expressions of PPAR- $\gamma$ , SREBP-1 and SCAP were significantly decreased( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Glycyrrhizin may alleviate the fat change of in vitro induced AFL cells by down-regulating expressions of PPAR- $\gamma$ , SREBP-1 and SCAP.

**[Key words]** glycyrrhizin; triglyceride; fatty liver, alcoholic; alanine transaminase; aspartate aminotransferase

酒精性脂肪肝(alcoholic fatty liver, AFL)是由于长期、过量的乙醇摄入所导致的肝脏受损疾病,主要的病理表现为肝细胞内脂质的蓄积,并且酒精性肝硬化的预后比较差<sup>[1-3]</sup>。随着近些年饮酒人群的增加,AFL 越来越受到人们的重视。甘草甜素是从中药甘草中分离出来的一种五环三萜皂苷化合物<sup>[4]</sup>。近年的研究发现甘草甜素能够清除体内多余的氧自由基,发挥抗氧化作用从而对肝脏起到保护作用<sup>[5-6]</sup>。但是关于甘草甜素在 AFL 中的作用尚少见报道。因此,本研究采用构建体外乙醇诱导的 AFL 肝细胞模型,观察甘草甜素对 AFL 肝细胞的保护作用及其机制。

## 1 材料与方

**1.1 材料** 尼罗红贮存液购自美国 Sigma Aldrich 公司;RIPM-1640 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶均购自美国 Gibco 公司;丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、三酰甘油(TG)测定试剂盒与 CCK8 试剂盒购自南京建成生物有限公司;核受体超家族转录因子  $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ )、含有“碱性螺旋-环-螺旋-亮氨酸拉链”结构的核转录因子 1(SREBP-1)、固醇调节元件结合蛋白裂解激活蛋白(SCAP)羊抗人多克隆抗体购自 Abcam 公司;Trizol Reagent 购自 Invitrogen 公司,逆转录试剂盒

和 cDNA 扩增试剂盒均购自 Thermo 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 正常肝细胞的培养** 人正常肝细胞 L02 细胞用含 10% 胎牛血清的 RIPM-1640 培养基,37 °C,5% CO<sub>2</sub> 环境下培养。

**1.2.2 CCK8 筛选乙醇诱导细胞的最佳浓度** 实验分为空白对照组、对照组、实验组。取处于生长分裂期的细胞,消化后均匀铺于 96 孔板中。待细胞完全贴壁向孔板中加入用含 1% 血清的 1640 培养基配置的 0、0.4%、0.8%、1.6%、3.2%、6.4%、12.8% 的乙醇。孵育 24 h 后,加入 10  $\mu$ L CCK8,采用酶标仪 450 nm 处检测各孔中吸光度值。

**1.2.3 AFL 肝细胞模型建立** 将实验分为对照组和诱导组。诱导组加入含 3% 乙醇的 1640 培养基培养。对照组 0.4% 乙醇诱导培养 3 d 后,换用正常培养基继续培养 3 d,并以 6 d 作为周期进行诱导,传代。在倒置显微镜下观察细胞质内的变化情况。将细胞分为对照组、继续诱导组、脱离乙醇组,甘草甜素组。对照组:用正常培养基培养;继续诱导组:加入含 0.4% 乙醇的培养基诱导;脱离乙醇组:L02 细胞经乙醇诱导之后换用正常培养基培养;甘草甜素组:L02 细胞经乙醇诱导之后换用

\* 基金项目:湖北省科技计划项目(2014CFB106)。 作者简介:卜晓芬(1986-),住院医师,硕士研究生,主要从事消化内科疾病的诊治研究。 △ 通信作者,E-mail:zhuhong99@21cn.com。

含 1.2 mmol/L 甘草甜素的正常培养基培养。

**1.2.4 CCK8 筛选甘草甜素处理细胞的最佳浓度** 实验组同 1.2.2。取处于生长分裂期,乙醇诱导 30 代的细胞。待细胞完全贴壁后加入含 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mmol/L 甘草甜素的 1% 血清的 1640 培养基,对照组加入不含甘草甜素的 1% 血清的 1640 培养基,孵育 24 h 后,向每孔中加入 10 mL CCK8,采用酶标仪 450 nm 处检测各孔中吸光度值。

**1.2.5 尼罗红染色检测细胞内脂肪蓄积** 取对数生长期正常的和经乙醇诱导后的 L02 细胞,接种细胞待培养 24 h 后。将染料尼罗红贮存液(1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )用 PBS 以 1:100 稀释比例稀释后滴加至盖玻片上,避光孵育 5 min。通过荧光显微镜观察细胞内脂肪的蓄积程度。

**1.2.5 细胞 ALT 和 AST 泄漏量的测定** 分别取对数生长期的各组细胞,经胰酶消化后,1 500 r/min,离心 5 min 后取各组细胞上清液,严格按照 ALT 和 AST 试剂盒上的说明书操作。

**1.2.6 细胞内 TG 水平的测定** 分别取对数生长期的各组细胞,胰酶消化后 1 500 r/min,离心 5 min。PBS 清洗细胞 2 次,每次 5 min,计数,控制细胞密度为  $10^6$  个/mL。向各组细胞中加入 1 mL 裂解液,裂解 30 min 后,4  $^{\circ}\text{C}$  离心 25 min,收集各组细胞的上清液送于本院检验科进行检测。

**1.2.7 流式细胞仪(FCM)检测细胞凋亡情况** 取各组中处于对数生长期的细胞,消化离心后制成单细胞悬液,加入 500  $\mu\text{L}$  binding-buffer 重悬,依次加入 Annexin-V、PI 各 5  $\mu\text{L}$ 。于 1 h 内在 FCM 上检测。结果判定:FITC-/PI- 为活细胞,FITC-/PI+ 为坏死细胞,FITC+/PI- 为早期凋亡细胞,FITC+/PI+ 为晚期凋亡细胞。细胞凋亡率计算公式如下:

$$\text{细胞凋亡率}(\%) = (\text{早期凋亡细胞数} + \text{晚期凋亡细胞数}) / \text{全部细胞数} \times 100\%$$

**1.2.8 FCM 检测细胞周期情况** 取各组中处于对数生长期的细胞,消化离心后制成单细胞悬液,加入含 75% 乙醇的 1 $\times$  binding buffer 重悬,4  $^{\circ}\text{C}$  固定 12 h 以上,加入 RNaseA 反应 30 min,5  $\mu\text{L}$  PI 室温避光反应 20 min。于 1 h 内在 FCM 上检测。

**1.2.9 Western blot 检测细胞 PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP 蛋白的表达** 取各组中处于对数生长期的细胞,提取细胞中的总蛋白,采用 12% 的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)2 h 分离蛋白,转膜,室温封闭 1 h,一抗 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜,二抗 [IgG(1:2 000)]37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 2 h,最后电化学发光显影后用凝胶成像分析系统(Bio-Rad, USA)测蛋白条带光密度值。

**1.2.10 RT-PCR 检测细胞 PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP mRNA 的表达** 取各组中处于对数生长期的细胞,提取细胞中的 RNA,反转录并扩增成 DNA。PPAR- $\gamma$  引物序列上游:5'-GCC TGC ATC TCC ACC TTA TTA-3',下游:5'-ATC TCC ACA GAC ACG A-3';SREBP-1 引物序列上游:5'-TGG GTT AGA GAA TGT GTT GGT G-3',下游:5'-GAA GTA GCC GAT GAG GAT GAT G-3';SCAP 引物序列上游:5'-ACA CAG CAA CCA GAA ACT CAA G-3',下游:5'-AGT GTG TCC TCC ACC TCA GTC T-3';以 GAPDH 作为内参,引物序列上游:5'-CAT GGG GTG TGA ACC ATG AGA-3';下游:5'-GTC TTC TGG GTG GCA GTG AT-3'。RT-PCR 反应条件如下:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 10 min,然后 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,50  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,70  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min,40 个循环,最后 70  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min 结束。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像分析系统检测条带灰度。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS22.0 统计软件进行统计分析,

正态分布计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用方差分析,检验水准  $\alpha = 0.05$ ,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 CCK8 筛选乙醇诱导细胞的最佳浓度** 随着乙醇浓度的增加,肝细胞的活力随之降低,活细胞的数目也逐渐减少,见图 1。

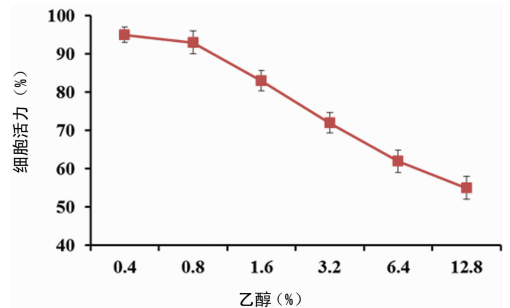


图 1 不同浓度乙醇作用肝细胞的 CCK8 结果

**2.2 CCK8 筛选甘草甜素处理细胞的最佳浓度** 随着甘草甜素处理浓度的增加,细胞活力呈现先升高后降低的趋势,当作用浓度为 1.2 mmol/L 时,甘草甜素对细胞的促生长作用最大,见图 2。

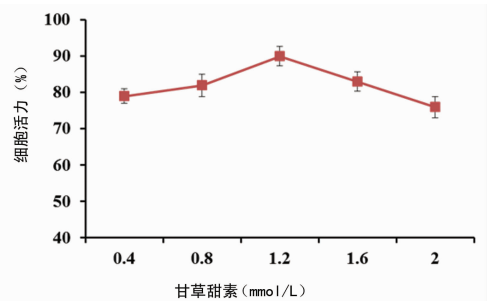
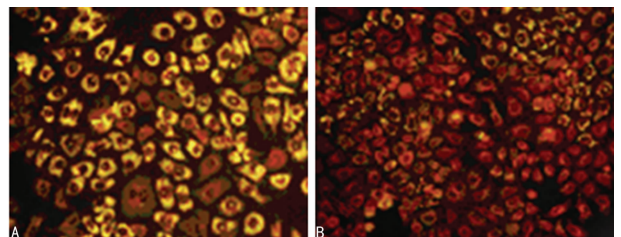


图 2 不同浓度甘草甜素作用于 AFL 肝细胞的 CCK8 结果

**2.3 各组细胞尼罗红染色结果** 实验组肝细胞的脂肪蓄积率为  $(58.85 \pm 5.08)\%$ ,对照组为  $(18.12 \pm 4.58)\%$ ,两组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。尼罗红染色结果发现,AFL 肝细胞中存在大量脂肪的蓄积,见图 3。



A: 实验组; B: 对照组

图 3 尼罗红染色显示细胞内脂肪蓄积( $\times 20$ )

**2.4 各组细胞 TG 水平及 ALT、AST 泄漏量比较** 与对照组比较,脱离乙醇组中 TG 水平有所降低( $P > 0.05$ );甘草甜素组细胞内的 TG 水平明显降低( $P < 0.01$ );继续诱导组细胞内的 TG 水平有所升高( $P > 0.05$ )。与对照组比较,脱离乙醇组细胞内的 ALT 与 AST 泄漏量降低( $P < 0.05$ );继续诱导组细胞内的 ALT 与 AST 泄漏量明显升高( $P < 0.05$ );而甘草甜素组细胞内的 ALT 与 AST 泄漏量明显降低( $P < 0.01$ ),见表 1。

**2.5 各组细胞周期与凋亡情况** 对照组中的细胞大部分处于  $G_0/G_1$  期, $G_2/M$  期细胞数目少。与对照组比较,甘草甜素组

中的细胞,S期细胞明显减少,G<sub>2</sub>/M期细胞增加,各组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与对照组相比,甘草甜素组的细胞凋亡率明显降低( $P<0.05$ ),见表2。

表1 各组细胞TG水平及ALT和AST泄漏量比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	TG(mmol/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)
对照组	2.24±0.25	5.92±0.45	6.24±1.92
脱离乙醇组	1.95±0.29	4.22±0.23 <sup>a</sup>	4.82±1.24 <sup>a</sup>
甘草甜素组	1.02±0.14 <sup>b</sup>	1.29±0.07 <sup>b</sup>	1.95±0.87 <sup>b</sup>
继续诱导组	2.43±0.34	6.46±0.53 <sup>a</sup>	6.79±2.15 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,<sup>b</sup>: $P<0.01$ ,与对照组比较

表2 各组细胞周期与凋亡结果比较(%)

组别	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期	S期	G <sub>2</sub> /M期	凋亡率
对照组	79.21	16.83	3.96	5.85
脱离乙醇组	73.47	18.26	8.27	4.69
甘草甜素组	78.95	11.04	10.01	3.25 <sup>a</sup>
继续诱导组	82.68	12.78	4.54	8.29

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与对照组比较

2.6 各组细胞中PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP蛋白的表达 空白对照组中PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP蛋白的表达低,在乙醇诱导后的AFL肝细胞中3种蛋白的表达出现了明显的升高,经药物甘草甜素治疗后AFL肝细胞内3种蛋白的表达明显降低( $P<0.05$ ),见图4。

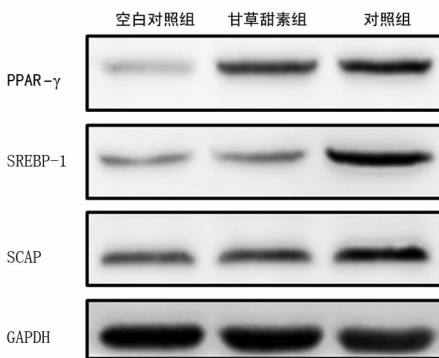


图4 各组细胞中PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP蛋白的表达

2.7 各组细胞中PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP mRNA的表达 空白对照组中PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP mRNA的表达低,在乙醇诱导后的AFL肝细胞中3种mRNA的表达出现了明显的升高( $P<0.05$ ),甘草甜素组肝细胞内3种mRNA的表达明显降低( $P<0.05$ ),见表3。

表3 各组细胞中PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP mRNA表达比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	PPAR- $\gamma$	SREBP-1	SCAP
空白对照组	1.02±0.12	1.03±0.11	0.99±0.06
对照组	2.55±0.23 <sup>a</sup>	2.68±0.16 <sup>a</sup>	2.49±0.31 <sup>a</sup>
甘草甜素组	1.72±0.11 <sup>b</sup>	1.62±0.14 <sup>b</sup>	1.54±0.10 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: $P<0.01$ ,与空白对照组比较;<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与对照组比较

### 3 讨论

近些年,多项报道关于甘草甜素在肝炎等肝脏疾病中

的作用。研究发现甘草甜素能够对四氯化碳诱导的肝损伤起保护作用,同时临床上采用甘草甜素的脂质体对AFL进行治疗<sup>[7]</sup>。但关于甘草甜素对酒精性肝损伤的报道少见。

李龙辉等<sup>[8]</sup>报道通过乙醇诱导L02成功建立了体外AFL模型。而本研究采用CCK8法筛选出了对肝脏细胞无明显损伤作用但又可对细胞活性产生一定影响的乙醇浓度作为亚致死量,通过对诱导前后的细胞进行尼罗红染色,发现诱导后的细胞内脂肪的蓄积率明显高于正常的肝脏细胞,传代后的细胞生长状况良好,证明建模成功并且模型比较稳定<sup>[9-10]</sup>。

本实验通过CCK8筛选甘草甜素的作用浓度,结果发现当作用浓度为1.2 mmol/L时,甘草甜素对细胞的促生长作用最大,因此选取1.2 mmol/L作为最佳浓度。而在本实验中,亚致死量的乙醇长期作用于肝脏细胞,导致肝细胞受损,细胞内的转氨酶泄露至培养基中,因此,本实验通过检测各组细胞上清液中ALT和AST泄漏量来反映肝脏功能<sup>[11-12]</sup>。结果发现,甘草甜素作用细胞后ALT和AST泄漏量明显降低( $P<0.05$ ),提示甘草甜素一定程度上能够减轻AFL的肝脏损伤。乙醇能够影响肝脏内TG的清除导致肝脏内大量TG蓄积进而形成脂肪肝<sup>[13]</sup>。本实验结果发现经甘草甜素治疗后TG明显降低( $P<0.01$ ),与动物实验结果基本一致<sup>[14]</sup>。同时本实验通过FCM检测了甘草甜素治疗后细胞的周期情况,发现细胞大部分阻滞在G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期,提示甘草甜素对细胞周期影响不大,但是能够通过降低细胞凋亡率来抑制细胞的增殖。

PPAR- $\gamma$ 是核受体超家族成员中的一员,有研究发现PPAR- $\gamma$ 在肝脏、肾脏等多种高代谢组织中存在表达,可以通过氧化脂肪酸从而清除肝脏内的TG,减少体内TG的蓄积<sup>[15]</sup>。SREBPs是一种重要的脂质稳态调节因子,当细胞内固醇减少时,SREBPs与SCAP结合由内质网转移至高尔基体,调控脂质代谢基因的表达,导致体内脂质的沉积<sup>[16]</sup>。本研究发现,乙醇诱导后的AFL肝细胞PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP mRNA的表达明显升高( $P<0.01$ ),经甘草甜素治疗后3种mRNA的表达出现了明显下调( $P<0.05$ ),同时各组细胞中3种蛋白的表达与mRNA表达一致。结果提示乙醇可以通过调控PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP表达促进脂质的产生,与YOU等<sup>[17]</sup>的研究结果一致;甘草甜素可能通过下调PPAR- $\gamma$ 、SREBP-1、SCAP表达,从而抑制脂质的产生,但是具体的机制还需进一步的研究。

### 参考文献

- [1] 李国春,黄新武,尹加珍,等. 赶黄草提取物对大鼠酒精性脂肪肝的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(2): 163-165.
- [2] PARK J H, LEE D H, PARK M S, et al. CCR5 deficiency exacerbates alcoholic fatty liver disease through pro-inflammatory cytokines and chemokines-induced hepatic inflammation[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2016, 32(6): 1258-1264.
- [3] 王宏英,陈林. 甘草甜素抑制小鼠慢性支气管炎模型肺组织中炎症细胞因子表达的作用机制[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(3): 372-374.
- [4] 李永伟,卢建溪,杨宏志,等. 甘草甜素对HepG2. 2. 15细胞株CCL20的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 148-150.
- [5] 刘协,顾呈华,胡启之,等. 甘草甜素脂质(下转第445页)

- [15] ARNOLD A, PAPANIKOLAOU A. Cyclin D1 in breast cancer pathogenesis[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(18): 4215-4224.
- [16] ZHANG Q, SAKAMOTO K, WAGNER K U. D-type Cyclins are important downstream effectors of cytokine signaling that regulate the proliferation of normal and neoplastic mammary epithelial cells[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 382(1): 583-592.
- [17] CHILES T C. Regulation and function of cyclin D2 in B lymphocyte subsets[J]. *J Immunol*, 2004, 173(5): 2901-2907.
- [18] MERMELSHTEIN A, GERSON A, WALFISCH S, et al. Expression of D-type cyclins in colon cancer and in cell lines from colon carcinomas[J]. *Br J Cancer*, 2005, 93(3): 338-345.
- [19] TAKANO Y, KATO Y, VAN DIEST P J, et al. Cyclin D2 overexpression and lack of p27 correlate positively and cyclin E inversely with a poor prognosis in gastric cancer cases[J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(2): 585-594.
- [20] KATOH Y, KATOH M. Hedgehog signaling pathway and gastric cancer[J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(10): 1050-1054.
- [21] KATOH Y, KATOH M. Integrative genomic analyses on GLI1: positive regulation of GLI1 by Hedgehog-GLI, TG-Fbeta-Smads, and RTK-PI3K-AKT signals, and negative regulation of GLI1 by Notch-CSL-HES/HEY, and GPCR-Gs-PKA signals[J]. *Int J Oncol*, 2009, 35(1): 187-192.
- [22] MALUMBRES M, BARBACID M. Mammalian cyclin-dependent kinases[J]. *Trends Biochem Sci*, 2005, 30(11): 630-641.
- [23] SHERR C J, BEACH D, SHAPIRO G I. Targeting CDK4 and CDK6: from discovery to therapy[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(4): 353-367.
- [24] OLINER J D, PIETENPOL J A, THIAGALINGAM S, et al. Oncoprotein MDM2 conceals the activation domain of tumour suppressor p53[J]. *Nature*, 1993, 362(6423): 857-860.
- [25] MOLL U M, PETRENKO O. The MDM2-p53 interaction[J]. *Mol Cancer Res*, 2003, 1(14): 1001-1008.
- [26] WANG W, ZHAO L J, TAN Y X, et al. MiR-138 induces cell cycle arrest by targeting cyclin D3 in hepatocellular carcinoma[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(5): 1113-1120.
- [27] WANG X, MENG X, SUN X, et al. Wnt/beta-catenin signaling pathway may regulate cell cycle and expression of cyclin A and cyclin E protein in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(10): 1567-1570.

(收稿日期: 2017-06-18 修回日期: 2017-09-26)

(上接第 438 页)

- 体对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(36): 8260-8261.
- [6] 张建, 唐红敏, 刘厚钰, 等. 甘草甜素多相脂质体对非酒精性脂肪肝肝功能的影响[J]. *肝脏*, 2003, 8(3): 30-32.
- [7] 马中春. 甘草甜素对四氯化碳诱发大鼠肝脏损伤的作用及其机制[J]. *毒理学杂志*, 2005, 19(3): 250-251.
- [8] 李龙辉, 李龙江, 汤为学, 等. 甘利欣作用前后体外酒精性脂肪肝细胞模型甘油三酯水平变化及其可能作用机制[J]. *重庆医科大学学报*, 2010, 35(2): 179-182.
- [9] 张红锋, 杨慧萍, 王耀发. 乙醇和软脂酸诱导的脂肪肝离体细胞模型[J]. *华东师范大学学报(自然科学版)*, 2002(4): 88-95.
- [10] 阮雪青. 体外酒精性脂肪肝模型的建立和评价[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [11] SHI D, ZHAN X, YU X, et al. Inhibiting CBI receptors improves lipogenesis in an in vitro non-alcoholic fatty liver disease model[J]. *Lipids Health Dis*, 2014, 13(1): 173.
- [12] KAPIL S, DUSEJA A, SHARMA B K, et al. Genetic polymorphism in CD14 gene, a co-receptor of TLR4 associated with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(42): 9346-9355.
- [13] BOONVISUT S, NAKAYAMA K, MAKISHIMA S, et al. Replication analysis of genetic association of the NCAN-CILP2 region with plasma lipid levels and non-alcoholic fatty liver disease in Asian and Pacific ethnic groups[J]. *Lipids Health Dis*, 2016, 15(1): 8.
- [14] DA SILVA R P, KELLY K B, LEONARD K A, et al. Creatine reduces hepatic TG accumulation in hepatocytes by stimulating fatty acid oxidation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1841(11): 1639-1646.
- [15] TOMIZAWA M, KAWANABE Y, SHINOZAKI F, et al. Elevated levels of alanine transaminase and triglycerides within normal limits are associated with fatty liver[J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8(3): 759-762.
- [16] SHI H, LUO J, ZHU J, et al. PPAR  $\gamma$  regulates genes involved in triacylglycerol synthesis and secretion in mammary gland epithelial cells of dairy goats[J]. *PPAR Res*, 2013, 2013(6): 310948.
- [17] YOU M, JOGASURIA A, TAYLOR C, et al. Sirtuin 1 signaling and alcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2015, 4(2): 88-100.

(收稿日期: 2017-06-22 修回日期: 2017-09-30)