

非酒精性脂肪性肝病动物模型研究进展

汪丹丹, 陈文静, 贾步云, 陈光亮*

(安徽中医药大学中西医结合学院, 第一附属医院, 合肥 230012)

[摘要] 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是一种以肝细胞内脂质过度蓄积,与胰岛素抵抗和遗传易感密切相关的代谢应激性肝损伤。中医称其为“肝癖”。NAFLD影响着全球约25%的人,是世界卫生保健系统的主要负担,但其确切发病机制尚不清楚,开展NAFLD相关的基础研究具有重要的临床意义和社会价值。动物模型作为研究NAFLD的重要工具,对于明确NAFLD发生、发展的病理生理学机制尤为重要,近年来国内外关于NAFLD的造模方法不断更新,尤其是中医证候方面的模型取得了一定的发展。笔者通过查阅和整理近年来国内外的相关文献资料,对NAFLD动物模型复制方法进行了总结。该文对膳食诱导(高脂饲料、高脂高果糖饲料、高脂高胆固醇饲料、蛋氨酸胆碱缺乏饲料)模型、遗传基因缺陷[瘦素基因缺乏(Lep^{ob}/Lep^{ob})小鼠、常染色体隐性糖尿病基因纯合子缺乏(ob/ob)小鼠、携带突变Alms1基因(foz/foz)小鼠、FATZO小鼠]+特殊饮食模型、中医证候(肝郁脾虚证、痰湿证、血瘀证、痰瘀互结证、气滞血瘀证)模型进行综述,并对其优缺点进行探讨,以期对制备更科学合理、经济便捷的NAFLD动物模型提供参考,为深入研究NAFLD的发病机制、预防与治疗NAFLD奠定基础。

[关键词] 非酒精性脂肪性肝病; 动物模型; 膳食诱导; 遗传基因缺陷; 中医证候; 研究进展

[中图分类号] R2-0;R289;G353.11;R318.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)23-0245-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212337

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211018.1145.004.html>

[网络出版日期] 2021-10-19 9:05

Animal Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Review

WANG Dan-dan, CHEN Wen-jing, JIA Bu-yun, CHEN Guang-liang*

(College of Integrative Medicine, First Affiliated Hospital, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

[Abstract] Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a metabolic stress-induced liver injury characterized by excessive lipid accumulation in hepatocytes, which is closely related to insulin resistance and genetic susceptibility. It falls into the category of "liver lump" in traditional Chinese medicine (TCM). NAFLD affects about 25% of the population worldwide and has become a major burden of the world health care system. However, its exact pathogenesis remains unclear. Conducting the basic research on NAFLD is of great clinical significance and social value. As an important tool for NAFLD research, animal model plays a particularly important role in clarifying the pathophysiological mechanism of NAFLD. In recent years, the modeling methods for NAFLD in China and abroad have been constantly updated, and in particular, certain progress has been made in the duplication of TCM syndrome models. By consulting and sorting out the relevant literature published in recent years in China and abroad, the author summarized the replication methods of NAFLD animal models. This paper reviewed the advantages and disadvantages of models established via dietary induction (high-fat feed, high-fat and high-fructose feed, high-fat and high-cholesterol feed, and methionine choline-deficient feed), models with genetic defects [leptin-deficiency (Lep^{ob}/Lep^{ob}), autosomal recessive diabetes gene

[收稿日期] 20210828(010)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09739-010)

[第一作者] 汪丹丹,在读硕士,从事药物防治代谢性疾病研究,E-mail:1571351210@qq.com

[通信作者] * 陈光亮,博士,教授,从事药物防治代谢性疾病研究,E-mail:chguangl@163.com

homozygous deficiency (ob/ob), Alms1 gene (foz/foz) mutation, and FATZO mice] and exposure to special diets, and models for TCM syndromes (liver depression and spleen deficiency syndrome, phlegm-dampness syndrome, blood stasis syndrome, combined phlegm and stasis syndrome, and qi stagnation and blood stasis syndrome), in order to provide reference for the preparation of more scientific, reasonable, economical, and convenient animal models of NAFLD, thus laying a foundation for in-depth study of the pathogenesis, prevention, and treatment of NAFLD.

[Keywords] nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD); animal models; dietary induction; genetic defects; traditional Chinese medicine (TCM) syndromes; research progress

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是一种与胰岛素抵抗(IR)和遗传易感密切相关的代谢应激性肝损伤,指除酒精和其他明确的损肝因素外所致的,病变主体在肝小叶,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变性和脂肪贮积为病理特征临床病理综合征。随着肥胖,2型糖尿病和代谢综合征的流行,NAFLD已成为我国第一大慢性肝病和健康体检肝生物化学指标异常的首要原因,严重危害人民生命健康^[1]。NAFLD发病机制尚未完全明确,目前尚缺乏有效的治疗药物,使得对于该疾病的研究变得更加迫切。近年来,国内外NAFLD动物模型研究不断更新^[2-3],但国外相关综述引用早期文献较多,且仅从西医模型入手如饮食诱导、基因缺陷等模型等,缺乏对中医病证结合模型的综述。国内文献虽然对于各类模型都有介绍但对中医证候模型没有深入介绍。基于此本文总结近年来中西医NAFLD模型研究最新成果,并对模型优缺点进行评价,为后续NAFLD的实验研究提供信息参考。

1 膳食模型

1.1 高脂饮食模型 雄性Wistar大鼠饲喂高脂饮食(HFD,71%脂肪+11%碳水化合物+18%蛋白质)3周,肝细胞出现明显的脂肪空泡、肝脏脂质总胆固醇、甘油三酯(TG)和空腹血糖明显升高,IR,线粒体功能障碍和单核细胞炎症以及肝脏肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和细胞色素P4502E1(CYP2E1)增加^[4-5]。C57BL/6J小鼠HFD饲喂,10周后出现肥胖,IR和高脂血症;34~36周后,丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)显著升高。然而在36~50周后,肝脏组织学检测这种饮食只会导致最小程度的纤维化。雄性C57BL/6J小鼠饲喂HFD(含脂肪60%),在16周出现肥胖、明显的脂肪变性、炎症、肝细胞气球样变、血糖上升、脂联素降低、高血糖和IR,NAS(NAFLD活动评分)高达5.5~5.8分^[6]。也有研究发现,以HFD(60%脂肪+20%碳水化合物+20%蛋白质)饲喂12周,C57BL/6J小鼠出现明显的

肝脏脂肪变性^[7]。

需要注意的是,代谢特征及NAFLD的发生时间和程度与动物品系、性别、肠道微生物种类、组成以及膳食脂肪含量有关,最短的可以在3周左右就形成经典的NAFLD模型。HFD可以复制人类NAFLD代谢参数改变的标志性特征,但肝脏病变程度不严重。越来越多的研究使用额外元素来复制更接近人类的NAFLD,例如添加果糖、胆固醇或两者都添加的饮食。

1.2 高脂高果糖饮食模型 果糖可促进肝脏从脂肪生成,抑制 β 氧化,导致肝内脂肪快速积累。过量摄取果糖还会促进肠道细菌过度生长,导致肝细胞损伤,从而促进NAFLD发生发展^[8]。C57BL/6J雄性小鼠,饲喂高脂高果糖(HFHF)饮食,HFD(含58%脂肪)+42 g·L⁻¹的碳水化合物(55%果糖+45%蔗糖)饮用水,16周时与单纯饲喂HFD组小鼠比较,HFHF组发展为严重的肝脏氧化应激,肝巨噬细胞聚集增多和肝纤维化。但两组均出现体质量和体脂质量增加,肝脏脂肪变性、空腹血糖增高和IR^[9]。HFHF饮食较单纯的HFD饮食更容易发展为NASH,肝纤维化。也较单纯的HFD饮食更接近人类饮食。

1.3 高脂高胆固醇饮食模型 高胆固醇被认为是与肝脏炎症和NAFLD进展相关的关键因素,在单纯的高脂饲料中添加适量的胆固醇会增加肝脏氧化应激,促进肝脏凋亡、巨噬细胞聚集和纤维化形成,使其从非酒精性脂肪肝(NAFL)更快地进展为NASH^[8,10]。此模型多在NASH中应用,因为其炎症反应较单纯饲喂HFD明显。C57BL/6J雄性小鼠喂食高脂+胆固醇饮食(HFHC,15%的脂肪和1%胆固醇)30周,与单纯饲喂高脂或高胆固醇的小鼠相比,HFHC组出现高胆固醇血症、血清脂联素降低、肥胖、严重的肝脂肪变性和炎症以及典型的窦周纤维化^[10]。

1.4 蛋氨酸和胆碱缺乏饮食模型 蛋氨酸和胆碱

缺乏饲料(MCD)通常富含蔗糖(40%)和脂肪(10%),但缺乏蛋氨酸和胆碱。胆碱和蛋氨酸这两种必需营养素的缺乏会导致肝脏脂肪 β 氧化受损和极低密度脂蛋白颗粒产生受损。蛋氨酸缺乏还可导致更明显的炎症和早期纤维化(8~10周后)^[11-12]。MCD饲喂2周后,C57BL/6J小鼠AST和ALT水平显著升高^[10]。

MCD饲喂2周,C57BL/6J小鼠肝脏出现轻度炎症与局灶性脂肪变化,饲喂6周,出现明显的NASH组织学特征:肝脂肪变性、炎症和肝细胞气球样变,NAS达到5.0^[13]。此外,MCD饲喂组小鼠肝脏出现局灶性坏死,偶见Mallory体和肝细胞坏死,Masson染色显示大量的I型和III型胶原纤维出现在窦周间隙中。

MCD饲喂6周,Wistar大鼠同样出现了明显的NASH组织学特征,血清ALT,AST明显升高。在该饮食模型中,没有肥胖和代谢综合征^[14-15]。

MCD饲喂的模型动物并没有表现出NAFLD的代谢特征,体质量反而显著下降(10周内下降40%)^[16]。因此,一般认为该模型对于研究与NASH相关的肝内事件和NASH的药物治疗是足够的,但对于研究表现人体NAFLD的各个方面是不够的,且与临床发病机制并不一致。

2 基因缺陷及转基因模型

2.1 Lep^{ob}/Lep^{ob}(ob/ob)小鼠模型 瘦素是一种由脂肪组织分泌的蛋白质类激素,通过下丘脑发挥显著的厌食作用。Lep^{ob}/Lep^{ob}(ob/ob)小鼠瘦素基因自发突变,导致瘦素缺陷。ob/ob小鼠嗜食、不活跃、极度肥胖,能量消耗减少并表现出高血糖,IR和高胰岛素血症^[17],12周龄时小鼠表现出轻度至重度脂肪变性,20周后出现气球样变和小叶炎症。ob/ob小鼠在未给与饮食干预时往往可作为NAFL模型,如果需要进一步的NASH,则需进行饮食干预(如HFD,MCD等),以高反式脂肪(40%),果糖(22%)和胆固醇(2%)的饮食12周,ob/ob小鼠出现代谢紊乱,TG和血浆肝酶升高。该饮食还诱导了NASH的明显组织学特征,包括肝纤维化,NAS达6.3,以同样饮食喂养的C57BL/6J小鼠NAS为4.7。

ob/ob小鼠更程度的肥胖、脂肪变性与IR使该模型有着重要的意义。但是在人类中,瘦素缺乏是一种非常罕见的情况,而且在NAFLD患者中,瘦素水平与疾病严重程度并不密切相关^[18]。

2.2 db/db小鼠模型 db/db小鼠是常染色体隐性糖尿病基因纯合子,该基因编码瘦素受体的点突

变,导致瘦素信号缺陷。db/db小鼠肥胖、糖尿病,并发大泡性肝脂肪变性,伴高血糖、高胰岛素血症^[19]。与ob/ob小鼠不同,db/db小鼠表现出正常或升高的瘦素。同样地,db/db小鼠不会自发地产生炎症或在没有进一步刺激的情况下表现出NASH特征。db/db小鼠也可用于研究在存在二次损害(如MCD饮食)的情况下,脂肪变性向NASH的进展。然而,由于基因突变导致的瘦素抵抗在人类中非常罕见,因此db/db小鼠模型在反映人类肥胖或NASH的起源方面有限。

2.3 foz/foz小鼠模型 携带突变Alms1基因的肥胖foz/foz小鼠,会自发发生肝脏脂肪变性、肥胖、糖尿病和IR以及胆固醇水平显著升高。高脂饲料可加重代谢异常,加重单纯脂肪变性向脂肪性肝炎的转变,导致严重的肝细胞气球样变、炎症和纤维化,并伴有脂联素水平显著降低和胆固醇水平升高。以HFD干预8周时,foz/foz小鼠出现肥胖、代谢紊乱和明显肝脏脂肪变性以及炎症,NAS为5.3,干预12周时NAS达到6.6,表现出明显的NASH特征^[20]。然而,foz/foz小鼠饮食诱导NASH的严重程度取决于品系。饲喂高脂饲料时,foz/foz C57BL/6J小鼠的NAFLD病理表现较foz/foz BALB/c小鼠严重^[21]。

2.4 MS-NASH小鼠模型 MS-NASH小鼠是通过对C57BL/6J和AKR/J菌株进行代谢异常表型筛选而获得。在完整的瘦素信号通路存在的情况下,在标准的鼠粮饮食下自然发生肥胖、代谢紊乱和高血糖。6周龄时出现葡萄糖不耐受、胰岛素抵抗(IR)和高胰岛素血症,但不会自发发生NASH^[22]。添加果糖的高脂饲料可诱导小鼠NASH模型^[23]。在喂食高脂饮食(含40%脂肪)+5%果糖的饮用水6周后,MS-NASH小鼠出现NASH表型,发生IR,肝脏脂肪变性、炎症、气球样变,血浆游离脂肪酸升高,NAS达到5.6^[24]。

关于基因突变所致的NAFLD模型与临床发病机制有一定的差距,但是在表现肥胖、血脂异常、代谢紊乱等,相较于正常的小鼠,基因缺陷和转基因鼠类则展现了不可替代的优势,研究人员对于基因小鼠的选择也越来越多。

3 中医证候模型

2009年发布的《非酒精性脂肪性肝病中医诊疗共识意见》将NAFLD的病名定为“肝癖”“胁痛”“积聚”。中医认为NAFLD主要病因为饮食不节,过食肥甘厚味,损伤脾胃,肝气不舒,气机不畅,脾虚不运,痰瘀互结,积于胁下,日久成病。痰湿、血瘀为

其主要病机。

3.1 肝郁脾虚证模型 刘杨等^[25]采用高糖高脂饲料结合慢性情志刺激(每日限制活动4 h)+饮食不节(第1天饲喂足量高糖高脂饲料,隔日禁食不禁水)的方法,造模14周。模型大鼠出现情绪低落、活动减少、毛色发黄、大便溏薄等,肝郁脾虚证证候积分显著升高,大鼠脑组织内5-羟色胺(5-HT),去甲肾上腺素(NE)含量以及尿液D-木糖排泄率显著降低,肝细胞中度至重度水肿,胞质内出现大量脂肪空泡,肝小叶正常结构破坏,小叶内可见散在的点状坏死和炎细胞浸润。

贾飞等^[26]以高脂高糖结合慢性情志刺激的方法进行干预,共10周。模型大鼠肝细胞胞浆内出现脂肪空洞,血清TC, TG, ALT水平显著升高,脑组织5-HT, NE含量以及尿液D-木糖排泄率均显著降低。

3.2 痰湿证模型 刘涛等^[27]采用高脂饮食的方法建立痰湿证大鼠模型,10周后,模型组大鼠体质量显著升高,行动迟缓,反应变慢,肝细胞肿胀,脂肪变性及炎症,肝功能、糖耐量与血脂水平异常,血清游离脂肪酸含量升高。

3.3 血瘀证模型 陈芝芸等^[28]以高脂饲料喂养建立大鼠血瘀型NAFLD模型。模型大鼠肝细胞出现气球样变,部分坏死灶融合成片,肝窦可见明显扩张瘀血;大鼠有明显的血瘀证候,表现为舌下静脉曲张、舌质青紫有瘀斑、眼球暗红、尾部瘀斑、易激惹等;大鼠全血黏度、红细胞聚集指数和刚性指数均明显升高,提示其血瘀证模型成功建立。

3.4 痰瘀互结证模型 朱晓宁等^[29]以高脂饲料结合不可预知的慢性情志刺激建立大鼠痰瘀互结证NAFLD模型,具体为,模型组大鼠置于铺设潮湿碎刨花的鼠笼内,以高脂饲料饲养10周,同时给予大鼠不可预知的慢性情志刺激包括噪声刺激10~12 h,闪烁强光刺激1~3 h以及24 h光照与黑暗刺激,以上刺激平均在7 d中各给予1次。模型大鼠第1, 10周时舌下络脉评分升高,舌泽及舌下络脉紫暗;肝小叶结构破坏,细胞内大量脂滴分布呈重度弥漫样脂肪变性,汇管区可见气球样变,肝小叶内大量炎性细胞浸润;血脂及血液黏稠度明显升高并伴肝功能下降。

3.5 气滞血瘀证模型 石贺^[30]以高脂饲料诱导结合绑腿刺激及试剂干预法制备气滞血瘀型NAFLD模型,具体如下:高脂饲喂8周,第5周时开始给予绑腿刺激,每日1次,持续30 min。并在第5周的周一给予造模大鼠尾静脉注射小牛血清清蛋白

125 mg·kg⁻¹, 10 d后注射第2次;造模第6周起尾静脉缓慢注射质量浓度为0.1 g·L⁻¹的NE,起始剂量为每天0.5 mL·kg⁻¹,每2天增加0.25 mL·kg⁻¹,直至增加到1.0 mL·kg⁻¹后持续至造模结束。模型组大鼠出现暴躁易怒、毛色暗淡光泽度降低、粪便时干时稀,肝脏指数升高,肝小叶的结构混乱,肝脏内肝细胞脂肪变性>60%,不同程度的大泡性、小泡性脂肪变性及两者混合变性,偶见炎性细胞浸润与坏死灶。

4 小结

理想的动物模型应该具备以下特点:①与人类疾病特征尽可能相似;②同人类NAFLD疾病进程一样,模型也同样需要一定的病变过程;③成模率高,对动物伤害小,死亡率低,具有一定的可重复性;④简单易行,造模时间较短。所综述的动物模型在代表NAFLD的全部疾病谱系方面都存在个体局限性,例如以MCD饮食建立的模型,虽然可以很好地引起NASH病理表现,但是由于人类的发病并未出现胆碱缺乏,这就导致这些模型与临床无法联系起来,与人类的发病机制相去甚远,无法为临床机制研究提供实验基础。基因缺陷型小鼠或大鼠虽然在一些指标方面有着很不错的特征,但在人群中相关的基因缺陷却少之又少,且基因缺陷鼠类价格昂贵,对饲养环境要求高,造模过程中容易出现死亡。关于HFD模型,大量收集脂肪含量、脂肪类型和可能补充剂的变化是一个非常艰难的工作,该类模型的主要优点是在病理生理学和表型上与人类NAFLD相似,主要的缺点仍然是实验持续时间延长,NAFLD严重程度较低,额外添加高糖高胆固醇等饲料喂养,也会因饲料的配方不同引起造模时间的不同,进而各组织学特征及生化指标不尽相同,通常想要得到与其他方法相同的生化指征,单纯的营养饲料喂养所需的时间更长。最近有研究^[31]提供了在小鼠中建立饮食诱导的NAFLD或NASH模型时,关于糖、脂肪和胆固醇的含量和类型的建议,为传统的饮食模型提供了最新参考方向。近年来中医药治疗NAFLD的研究成为热点,目前病证结合动物模型研究尚不成熟,没有统一的质量标准,国内相关报道较少,因此还需进一步探索和完善。符合中医证候模型的形成原理、方法和判断指标难以界定,以及一些传统的中医指征如脉搏、舌苔、问诊等无法在动物模型上进行准确量度,因此相关的模型尚需进一步验证,模型公认度有待提高。

尽管各动物模型存在不足,但仍然是研究NAFLD发病机制和进展以及发现潜在治疗靶点、探索发现新药与老药新用的有用工具,以及在后续开发更好的模型时,这些现有的常用模型将是最好的标尺。

[参考文献]

- [1] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018年更新版)[J]. 实用肝脏病杂志, 2018, 21(2): 177-186.
- [2] VAN H, VONGHIA L, FRANCQUE S. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease-a starter's guide[J]. *Nutrients*, 2017, 9(10): 1072.
- [3] 张译之, 张晓慧, 陈煜. 非酒精性脂肪性肝病动物模型研究进展[J]. 实用肝脏病杂志, 2021, 24(5): 761-764.
- [4] SAAD Z A, KHODDER D M, ZAITONE S A, et al. Exenatide ameliorates experimental non-alcoholic fatty liver in rats via suppression of toll-like receptor4/NF- κ B signaling: comparison to metformin[J]. *Life Sci*, 2020, 253: 117725.
- [5] IBRAHIM S H, HIRSOVA P, MALHI H, et al. Animal models of nonalcoholic steatohepatitis: eat, delete, and inflame[J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(5): 1325-1336.
- [6] WANG W, ZHAO J, GUI W, et al. Tauroursodeoxycholic acid inhibits intestinal inflammation and barrier disruption in mice with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(3): 469-484.
- [7] JIANG M, WU N, CHEN X, et al. Pathogenesis of and major animal models used for nonalcoholic fatty liver disease[J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(4): 1453-1466.
- [8] SUBRAMANIAN S, GOODSPEED L, WANG S, et al. Dietary cholesterol exacerbates hepatic steatosis and inflammation in obese LDL receptor-deficient mice[J]. *J Lipid Res*, 2011, 52: 1626-1635.
- [9] ABDELMALEK M F, SUZUKI A, GUY C, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*, 2010, 51: 1961-1971.
- [10] SAVARD C, TARTAGLIONE E V, KUVER R, et al. Synergistic interaction of dietary cholesterol and dietary fat in inducing experimental steatohepatitis[J]. *Hepatology*, 2013, 57: 81-92.
- [11] LAU J K, ZHANG X, YU J. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances[J]. *J Pathol*, 2017, 241(1): 36-44.
- [12] ITAGAKI H, SHIMIZU K, MORIKAWA S, et al. Morphological and functional characterization of nonalcoholic fatty liver disease induced by a methionine-choline-deficient diet in C57BL/6 mice[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(12): 2683-2696.
- [13] VESKOVIC M, LABUDOVIC-BOROVIC M, MLADENOVIC D, et al. Effect of betaine supplementation on liver tissue and ultrastructural changes in methionine-choline-deficient diet-induced NAFLD[J]. *Microsc Microanal*, 2020, 26(5): 997-1006.
- [14] SAMANO HERNANDEZ L, FOERRO R, MARCHAL A, et al. Beneficial and deleterious effects of sitagliptin on a methionine/choline-deficient diet-induced steatohepatitis in rats[J]. *Biochimie*, 2021, 181: 240-248.
- [15] PIERANTONELLI I, SVEGLIATI-BARONI G. Nonalcoholic fatty liver disease: basic pathogenetic mechanisms in the progression from NAFLD to NASH[J]. *Transplantation*, 2019, 103(1): e1-e13.
- [16] SANCHES S C, RAMALHO L N, AUGUSTO M J, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a search for factual animal models[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 574832.
- [17] MOLLAH M L, YANG H S, JEON S, et al. Overaccumulation of fat caused rapid reproductive senescence but not loss of ovarian reserve in ob/ob Mice[J]. *J Endocr Soc*, 2020, 5(1): 168.
- [18] KRISTIANSEN M N, VEIDAL S S, RIGBOIT K T, et al. Obese diet-induced mouse models of nonalcoholic steatohepatitis-tracking disease by liver biopsy[J]. *World J Hepatol*, 2016, 8: 673-684.
- [19] YANG H, YANG T, HENG C, et al. Quercetin improves nonalcoholic fatty liver by ameliorating inflammation, oxidative stress, and lipid metabolism in db/db mice[J]. *Phytother Res*, 2019, 33(12): 3140-3152.
- [20] POEKES L, GILLARD J, FARRELL G C, et al. Activation of brown adipose tissue enhances the efficacy of caloric restriction for treatment of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Lab Invest*, 2019, 99(1): 4-16.
- [21] FARRELL G C, MRIDHA A R, YEH M M, et al. Strain dependence of diet-induced NASH and liver fibrosis in obese mice is linked to diabetes and inflammatory phenotype[J]. *Liver Int*, 2014, 34: 1084-1093.
- [22] DROZ B A, SNEED B L, JACKSON C V, et al.

- Correlation of disease severity with body weight and high fat diet in the FATZO/Pco mouse[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6):e0179808.
- [23] POMPILI S, VETUSCHI A, GAUDIO E, et al. Long-term abuse of a high-carbohydrate diet is as harmful as a high-fat diet for development and progression of liver injury in a mouse model of NAFLD/NASH [J]. *Nutrition*, 2020, 75-76: 110782.
- [24] KAMM D R, PYILES K D, SHARPE M C, et al. Novel insulin sensitizer MSDC-0602K improves insulinemia and fatty liver disease in mice, alone and in combination with liraglutide[J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100807.
- [25] 刘杨,李明磊,贾飞,等. 逍遥散对非酒精性脂肪性肝炎肝郁脾虚证大鼠TLR-4/TRIF信号转导通路的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(17): 108-113.
- [26] 贾飞,苗宇船,苏赵威,等. 逍遥丸对肝郁脾虚证非酒精性脂肪肝病大鼠TLR4表达的影响[J]. *山西中医*, 2016, 32(3): 48-50.
- [27] 刘涛,徐秋玲,杨叔禹. 高脂饮食诱导痰湿证动物模型的建立与评价[J]. *长春中医药大学学报*, 2009, 25(3): 333-335.
- [28] 陈芝芸,蔡丹莉,严茂祥,等. 血瘀型非酒精性脂肪性肝病病证结合模型的建立和评价[J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(3): 727-731.
- [29] 朱晓宁,汪静,郑丁,等. 非酒精性脂肪性肝病痰瘀互结证大鼠模型的构建及评价[J]. *中医杂志*, 2017, 58(22): 1953-1956.
- [30] 石贺. 化瘀软肝胶囊对气滞血瘀型非酒精性脂肪性肝病大鼠糖脂代谢相关酶及氧化产物的影响[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2019.
- [31] ENG J M, ESTALL J L. Diet-induced models of non-alcoholic fatty liver disease: food for thought on sugar, fat, and cholesterol[J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1805.

[责任编辑 孙丛丛]