

· 药理 ·

加味泽泻汤对 NAFLD 大鼠肝脏炎症信号通路相关蛋白表达的影响

郭雨雅, 孙晓琦, 方晶, 方南元*, 薛博瑜*
(南京中医药大学研究生院, 南京 210046)

[摘要] **目的:**探讨加味泽泻汤对高脂饮食诱导的大鼠非酒精性脂肪肝(NAFLD)模型的治疗机制。**方法:**SPF级大鼠分为空白组、模型组、加味泽泻汤组、多烯磷脂酰胆碱组,大鼠分别以10%或45%高脂纯化饲料喂养12周构建NAFLD模型。加味泽泻汤及多烯磷脂酰胆碱治疗组分别给药4周,空白组及模型组则给予相应体积双蒸水4周。以蛋白免疫印迹(Western blot)法检测Toll样受体4(TLR4),髓样分化因子88(MyD88),核转录因子- κ B p65(NF- κ B p65),p38丝裂原活化蛋白酶(p38 MAPK),磷酸化的p38丝裂原活化蛋白酶(p-p38),c-Jun氨基末端激酶(JNK),半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)在大鼠肝脏中的表达。**结果:**与空白组比较,模型组TLR4,MyD88,NF- κ B p65,p-p65,p38 MAPK,p-p38,JNK及Caspase-1蛋白表达明显增高($P < 0.05$);而加味泽泻汤组相应蛋白的表达量较模型组均显著下降($P < 0.01$)。**结论:**在高脂饮食诱导的大鼠NAFLD模型中,加味泽泻汤通过抑制TLR4/NF- κ B,MAPK信号通路相关蛋白的表达,从而抑制肝脏炎症的产生、缓解肝脏的损伤,达到治疗NAFLD的目的。

[关键词] 加味泽泻汤;非酒精性脂肪肝;Toll样受体4;核转录因子- κ B;丝裂原活化蛋白酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)05-0090-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017050090

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161207.1429.072.html>

[网络出版时间] 2016-12-07 14:29

Effect of Modified Zexietang on Expression of Proteins Related to Inflammatory Pathway in NAFLD Rat

GUO Yu-ya, SUN Xiao-qi, FANG Jing, FANG Nan-yuan*, XUE Bo-yu*

(College of Postgraduates, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of modified Zexietang on treatment of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats. **Method:** NAFLD rat model was established by high fat feeding (10% or 45% high fat feed) for 12 weeks and divided into 4 groups: control group, model group, modified Zexietang group and polyene phosphatidyl choline group. After the administration for four weeks, the corresponding volume of double distilled water was given for four weeks. Western blot was used to detect the expression of Toll like receptor 4 (TLR4), myeloid differentiation factor 88 (MyD88), nuclear factor-kappaB p65 (NF- κ B p65), phosphorylated p65 (p-p65), p38 mitogen activated protein kinase (p38 MAPK), p-p38 (phosphorylated p38), c-Jun-NH2-terminal kinase (JNK) and cysteinyl aspartate-specific proteases-1 (Caspase-1) in liver. **Result:** Compared with control group, the above proteins in model group were significantly increased ($P < 0.05$); and proteins in the modified Zexietang group were significantly decreased compared with model group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Modified Zexietang could inhibit liver

[收稿日期] 20160524(022)

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(81403376);江苏省自然科学基金青年项目(BK20130955)

[第一作者] 郭雨雅,硕士,从事中医肝病研究,Tel:18751893025,E-mail:guo.yuyal@163.com

[通讯作者] *方南元,博士,讲师,从事中医肝胆病学研究,Tel:13951945606,E-mail:lionlog@126.com;

*薛博瑜,博士,主任中医师,教授,博士生导师,从事中医内科学肝脏研究,Tel:025-8581229,E-mail:xueboyu9502@sina.com

inflammation and alleviate liver damage. Its mechanism may be related to the inhibition of the expression of protein in TLR4/NF- κ B and MAPK signal pathways.

[Key words] modified Zexietang; non-alcoholic fatty liver disease; Toll like receptor 4; nuclear factor-kappa B (NF- κ B); mitogen activated protein kinase

非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 包括单纯性脂肪及其进一步发展而来的脂肪性肝炎和肝硬化等。流行病学研究表明,近年来 NAFLD 患病率增加,且发病低龄化趋势显著^[1]。NAFLD 的发病机制较为复杂,目前普遍认为胰岛素抵抗、氧化应激及脂质过氧化为其发病过程中的重要因素^[2-3]。Toll 样受体 4 (TLR4) 是 NAFLD 发展过程中的关键因素之一,当其与特异性配体结合后,可通过系列的级联反应激活信号通路下游的炎症因子,导致肝细胞的死亡、肝脏的损伤及纤维化的形成^[4]。加味泽泻汤由《金匱要略》中泽泻汤 (白术、泽泻) 加熟大黄化裁而得。《金匱要略》中众多经典方如茵陈蒿汤、茵陈五苓散等,可用于治疗不同时期 NAFLD,有关其疗效及机制研究已十分详实,而泽泻汤加减治疗 NAFLD 的机制研究少见。本课题组前期研究表明,加味泽泻汤对高脂饮食诱导的小鼠 NAFLD 模型具有显著疗效。治疗后 NAFLD 小鼠天门冬氨酸氨基转移酶 (AST), 丙氨酸氨基转移酶 (ALT), 总胆固醇 (TC), 甘油三脂 (TG) 等均有所下降,白细胞介素-1 (IL-1), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等炎症因子的表达也相应减少^[5]。本研究以 MyD88 依赖途径中 TLR4/核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路及丝裂原活化蛋白酶 (MAPK) 信号通路为基础,检测相关蛋白的表达,进一步探讨加味泽泻汤对 NAFLD 的治疗机制,为中医药临床治疗 NAFLD 提供实验基础。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性大鼠 44 只,8 周龄,体重 (200 \pm 20) g,由上海斯莱克公司提供,合格证号 SCXK (沪) 2001-0056,饲养于南京中医药大学动物实验中心。本研究获得南京中医药大学实验动物伦理委员会 [编号 ACU-38 (20141226)] 批准,符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。空白组采用 10% 脂肪含量的高脂纯化饲料,高脂饮食组采用 45% 脂肪含量的高脂纯化饲料 (扬州江苏美迪森生物医药有限公司,批号 MD12032)。

1.2 药物 实验用药物均购自南京中医药大学百草堂门诊部,中药饮片泽泻-炒白术-熟大黄由南京中医药大学中药鉴定教研室谷巍教授鉴定,泽泻为

泽泻科植物泽泻 *Alisma orientalis* 的干燥块茎;白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* 的根茎;大黄为蓼科植物掌叶大黄、唐古特大黄或药用大黄 *Rheum palmatum* 的干燥根及根茎。泽泻-炒白术-熟大黄 (30:12:15) 共计 670 g,分 2 次加入蒸馏水浸泡 30 min,煎煮 30 min,过滤后合并 2 次滤液,经旋转蒸发仪浓缩至含生药 1 g·mL⁻¹。

1.3 试剂 蛋白裂解液 (RIPA,上海碧云天生物科技有限公司,批号 P0013B);蛋白酶抑制剂 cocktail (Sigma 公司,批号 P8340);聚偏乙烯 (PVDF) 膜 (Roche 公司,货号 30010040001);脱脂奶粉 (美国 BD 公司,批号 232100);兔源 TLR4 一抗 (ABclonal 公司,批号 32503);MyD88, NF- κ B p65, p-p65 (苏州睿瀛公司,批号分别为 RLT2928, RLH0006, RLP0183);p38 MAPK, p-p38 MAPK, JNK, 半胱氨酸蛋白酶-1 (Caspase-1) 一抗, HRP 标记羊源抗兔二抗 (Cell Signal 公司,批号分别为 8690p, 4511p, 9258p, 33457, 7074);甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH, Bioworld 公司,批号 AB22131);鼠二抗 (ABcam 公司,批号 97023);ECL 发光液体 (Ermo 公司,批号 32209);ALT, AST 试剂盒, TC 测定试剂盒 (单试剂 GPO-PAP 法), TG 酶法试剂盒, 血清高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 试剂盒, 血清低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) (南京建成生物工程研究所,批号分别为 C009-2, C010-2, A111-1, F001-2, F003-2, F004-2)。

1.4 仪器 EnSpire 型多功能酶标仪 (美国 Perkin Elmer 公司); 1645050 型垂直蛋白电泳系统, 1703848/1703930 型蛋白半干/湿转印系统 (美国 Bio-Rad 公司); TACON 320 型蛋白凝胶成像仪 (美国 GE 公司); M401291 型低温超速离心机 (美国 Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 造模和分组 大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为两组,空白组 (12 只) 及高脂饮食组 (32 只)。空白组给予 10% 脂肪含量纯化饲料,高脂饮食组给予 45% 脂肪含量纯化饲料。每 2 周称量体重 1 次,共 12 周。于造模开始后第 8, 12 周从空白及高脂饮食组中各随机抽取 1 只大鼠进行肝脏组织学检测,出现显著肝脏脂质沉积则模型建立。确认造模成功

后,将造模成功的模型组大鼠随机分为 3 组,即模型组、加味泽泻汤组、多烯磷脂酰胆碱(易善复)组,各 10 只。给药治疗 4 周。前期实验中加味泽泻汤组按照人与大鼠给药折算比计算后给予 $5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃后,与模型组比较肝组织损伤减轻,但相关蛋白表达量改变,故本次实验选取加味泽泻汤为 $5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃;易善复组折算后给药剂量为 $0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [6],空白组及模型组均给予相应体积的蒸馏水。

2.2 肝组织观察及血清生化指标检测 取大鼠肝组织冰冻切片染色,观察组织脂滴分布。收集小鼠全血,静置后离心取上清,根据试剂盒说明书检测。

2.3 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测相关蛋白表达 取肝脏组织 50 mg,加入 RIPA 蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂及磷酸化抑制剂混合物各 1 mL,置于球磨机中研磨成匀浆, $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $16\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min,取上清。以考马斯蓝 G250 建立标准曲线,测定各组肝组织蛋白浓度。最后各样本中加入 $4 \times$ 上样缓冲液, $100 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 5 min。

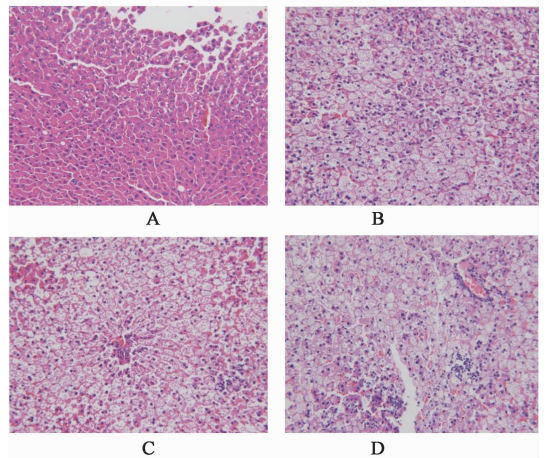
分别配制 10% 分离胶及 4% 浓缩胶,加样后电泳(100 V, 15 min; 120 V, 1 h)。TLR4 采用湿转(恒流 250 mA, 2 h),余采用半干转(25 V, 30 min),转膜后采用 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,相关指标一抗(1:1 000) $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜,二抗(1:2 000)室温孵育 2 h, ECL 发光液孵育后凝胶成像仪上显影拍照。以目的蛋白/GAPDH 表示蛋白相对表达量。

2.4 统计学方法 采用统计学软件 SPSS 23.0 进行分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示计量数据。多组间比较采用 ANOVA 分析,两两比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 加味泽泻汤对大鼠肝脏组织学的影响 正常组大鼠肝组织结构无明显病变:小叶结构清晰,肝窦

结构正常,肝细胞排列整齐,呈多边形,无损坏,细胞核位于细胞中央,细胞质内无空泡。模型组大鼠肝组织可见明显的病理性改变:肝细胞肿胀,气球样变,细胞质内可见显著大小不一的圆形脂滴,以小泡性脂滴为主,细胞核被挤压至靠边缘,偶可见散在坏死的肝细胞,肝索紊乱,肝小叶内炎症浸润。药物干预组大鼠肝组织脂肪变性及炎症浸润情况较模型组有不同程度的改善。见图 1。



A. 空白组; B. 模型组; C. 加味泽泻汤组; D. 多烯磷脂酰胆碱(易善复)组

图 1 加味泽泻汤对大鼠肝组织病理变化的影响(HE, $\times 100$)

Fig. 1 Effect of modified Zexietang on pathological changes of liver tissue in different group of rats(HE, $\times 100$)

3.2 加味泽泻汤对大鼠血清生化指标的影响 本研究选用 45% 高脂纯化饲料造模 12 周[7-8],结果各组 AST, ALT, TC, LDL-C 均有明显改变。与模型组比较,加味泽泻汤组及易善复组 AST 值均明显下降($P < 0.05$);加味泽泻汤组及易善复组 ALT, LDL-C 均显著下降($P < 0.01$)。结果提示 45% 高脂纯化饲料饲养 12 周后大鼠有明显的肝脏损伤,经过药物干预后肝脏损伤得到缓解。见表 1, 2。

表 1 加味泽泻汤对大鼠血清 AST, ALT, TC 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of modified Zexietang on level of AST, ALT, TC in rats of each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	AST/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	ALT/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	TC/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
空白	-	239.67 ± 121.73	77.67 ± 65.91	1.30 ± 0.12
模型	-	$441.67 \pm 144.93^{1)}$	$334.67 \pm 149.65^{2)}$	$3.37 \pm 0.93^{2)}$
加味泽泻汤	5	$200.33 \pm 41.68^{3)}$	$81.33 \pm 16.30^{4)}$	$1.91 \pm 0.18^{4)}$
易善复	0.1	$188.67 \pm 32.13^{3)}$	$128.33 \pm 48.60^{4)}$	$1.92 \pm 0.28^{4)}$

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 4 同)。

3.3 加味泽泻汤对大鼠信号通路相关蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠 TLR4, NF- κ B p65, p-p65, Caspase-1, p38 MAPK, p-p38, JNK 蛋白表达量均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,加味泽泻汤组大鼠 TLR4, NF- κ B p65, p-p65,

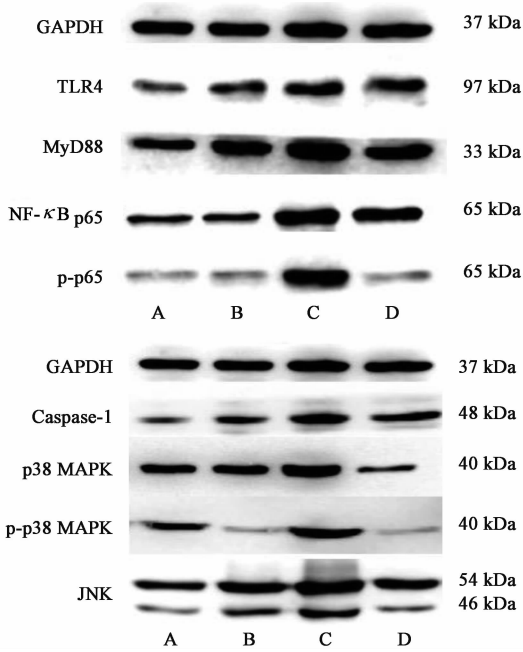
Caspase-1, p38 MAPK, p-p38, JNK 蛋白表达量均显著降低($P < 0.01$)。见图 2, 表 3, 4。

4 讨论

NAFLD 发病率逐年上升,但发病机制却未完全明确。目前较为公认的仍是“二次打击”学说,即

表 2 加味泽泻汤对大鼠血清 TG, HDL-C, LDL-C, GLU 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	TG	HDL-C	LDL-C	GLU
空白	-	0.51 ± 0.10	1.06 ± 0.12	0.25 ± 0.08	6.55 ± 0.79
模型	-	0.47 ± 0.32	1.42 ± 0.11	1.08 ± 0.33 ²⁾	8.26 ± 2.35
加味泽泻汤	5	0.39 ± 0.10	0.61 ± 0.51 ³⁾	0.44 ± 0.03 ⁴⁾	7.38 ± 2.31
易善复	0.1	0.53 ± 0.12	0.66 ± 0.49 ³⁾	0.73 ± 0.13 ⁴⁾	7.52 ± 1.59



A. 多烯磷脂酰胆碱(易善复)组; B. 加味泽泻汤组; C. 模型组; D. 空白组

图 2 TLR4, NF-κB p65, p-p65, Caspase-1, p38 MAPK, p-p38, JNK 蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of TLR4, NF-κB p65, p-p65, Caspase-1, p38 MAPK, p-p38, JNK protein expression

该病的发生发展与胰岛素抵抗、氧化应激和脂质过氧化密切相关。此外,近年来的研究表明肠道微生物影响着 NAFLD 的发生与发展。NAFLD 患者常伴随着不同程度的肠道菌群失调、细菌过度生长及肠道通透性的增加,又由于肝脏特殊的生理解剖位置,

表 3 加味泽泻汤对大鼠肝组织 TLR4, MyD88, NF-κB p65, p-p65 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	TLR4/GAPDH	MyD88/GAPDH	NF-κB p65/GAPDH	p-p65/GAPDH
空白	-	0.45 ± 0.38	0.72 ± 0.16	0.64 ± 0.31	0.30 ± 0.06
模型	-	0.87 ± 0.30 ¹⁾	1.33 ± 0.34 ²⁾	1.42 ± 0.76 ²⁾	1.79 ± 0.09 ²⁾
加味泽泻汤	5	0.40 ± 0.17 ⁴⁾	0.66 ± 0.18 ⁴⁾	0.65 ± 0.15 ⁴⁾	0.55 ± 0.21 ⁴⁾
易善复	0.1	0.36 ± 0.19 ⁴⁾	0.71 ± 0.38 ⁴⁾	0.66 ± 0.34 ⁴⁾	0.63 ± 0.38 ⁴⁾

表 4 加味泽泻汤对大鼠肝组织 Caspase-1, p38 MAPK, p-p38, JNK 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	Caspase-1/GAPDH	p38 MAPK/GAPDH	p-p38/GAPDH	JNK/GAPDH
空白	-	0.71 ± 0.41	0.55 ± 0.15	0.25 ± 0.94	0.60 ± 0.27
模型	-	2.43 ± 1.87 ²⁾	1.40 ± 0.25 ²⁾	1.24 ± 0.13 ²⁾	0.98 ± 0.33 ²⁾
加味泽泻汤	5	0.93 ± 0.38 ⁴⁾	0.56 ± 0.34 ⁴⁾	0.18 ± 0.51 ⁴⁾	0.46 ± 0.14 ⁴⁾
易善复	0.1	0.97 ± 1.00 ⁴⁾	0.61 ± 0.49 ⁴⁾	0.82 ± 0.14 ⁴⁾	0.49 ± 0.16 ⁴⁾

导致其能源不断接受肠源性刺激,从而引起或加重肝脏损伤^[9-10]。

TLR4 作为 TLRs 家族的一员,在各种肝脏细胞中广泛表达,并且是脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 的模式受体,可以与 LPS 相互作用从而诱导炎症产生、参与氧化应激、胰岛素抵抗及肝脏炎症损伤和纤维化修复^[11]。NAFLD 患者体内 TLR4^[12-13] 及 LPS^[10] 的表达较正常人水平均有显著上调。当肝脏接受肠源性 LPS 的刺激后,在肝细胞中广泛表达的 TLR4 与其结合后导致一系列级联反应的产生,最终致使炎症因子大量的合成与释放,进一步导致了肝细胞的死亡、肝脏的损伤。故本研究选择 TLR4 进行验证,实验结果示 TLR4 在高脂饮食介导的模型组中表达量较空白组增加,而在加味泽泻汤组及易善复组中表达量下降。

TLR4 信号通路中 MyD88 依赖途径较为经典。在 MyD88 依赖途径中,TLR4 与接头蛋白桥接后在细胞膜内募集 MyD88,激活 IL-1 受体相关激酶 (IRAK),活化肿瘤坏死受体相关因子 6 (TRAF6) 以及转化生长因子激酶 (TAK-1),最终磷酸化 MAPK 和 IκB 激酶 (IKK) 的复合物,分别引起 MAPK 和 NF-κB 这 2 条信号传导途径。失活状态下, NF-κB 二聚体与核转录因子-κB 抑制蛋白 (I-κB) 结合,并不参与炎症反应。活化的 IKK 使 I-κB 发生磷酸化、泛素化并与 NF-κB 解离,从复合物中解离的 NF-κB 进一步

磷酸化后进入细胞核,调控相关炎症基因转录。另一方面,在 MAPK 信号通路中,通过 ERK, JNK 和 p38 三条级联反应,激活相关转录因子进入细胞核,调控 IL-1 和 TNF- α 等炎症因子的转录^[14-15]。

实验结果显示模型组 TLR4, MyD88, NF- κ B p65, p-p65, p38 MAPK, p-p38, JNK, Caspase-1 较空白组表达量增高;加味泽泻汤组中上述蛋白的表达量较模型组均显著下降,其中 NF- κ B p65 与磷酸化的 p65 表达量趋势均下降。失活状态的 NF- κ B 为 p65 与 p50 形成的二聚体,当 p65 及 p50 从二聚体分离、磷酸化即为激活状态。考虑可能原因为加味泽泻汤使 NF- κ B 总体表达量减少,故磷酸化的 p65 表达也相应减少;p38 MAPK 与磷酸化的 p38 表现亦同。此外,结果显示加味泽泻汤组 Caspase-1 较模型组表达量有所降低,又表明 Caspase-1 也能激活 NF- κ B,从而促进下游炎症因子的合成及释放,因此在细胞炎症反应中也起着重要的调控作用^[16]。加味泽泻汤组中 JNK 总体表达量较模型组有明显降低,而磷酸化的 JNK 并无明显趋势,故本实验结果提示 TLR4 介导的 NF- κ B 及 p38 MAPK 信号通路是加味泽泻汤治疗 NAFLD 的靶点通路之一。

加味泽泻汤由泽泻、白术及熟大黄组成。其中泽泻利水渗湿,泄热,化浊降脂;白术健脾益气、燥湿利水;熟大黄经过炮制,缓和了生大黄猛烈的泻下作用,又加强了活血化瘀的功效。目前普遍认为 NAFLD 病因复杂,该病中医病机总属“痰湿瘀滞”,与肝脾肾三脏密切相关,且脾肾亏虚为本,肝郁为标,痰、湿、瘀为主要病理因素^[17],治以健脾、化痰、除湿、化瘀为主。加味泽泻汤中白术健脾益气为补,泽泻祛痰利水,熟大黄活血化瘀、涤荡浊邪,此两者为泄,扶正祛邪,补泻兼施,虽组方简单,但明确体现了 NAFLD 健脾泄浊治疗法则。此外,有研究证明泽泻、白术、大黄均有一定的降脂、抗炎的功效^[18-21],从现代药理学角度对加味泽泻汤“健脾泄浊”法治疗 NAFLD 进行了解释。

综上所述,在高脂饮食诱导的大鼠 NAFLD 模型中,加味泽泻汤通过减少 TLR4 蛋白的表达,继而抑制下游 MyD88, p38 MAPK 及 NF- κ B 的合成及活化,从而抑制炎症的产生、缓解肝脏的损伤。

[参考文献]

[1] Younossi Z M, Koenig A B, Abdelatif D, et al. Chávez-Tapia. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes [J]. *Hepatology*, 2016, 64 (1): 73-84.

[2] Birkenfeld A L, Shulman G I. Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance and type 2 diabetes [J]. *Hepatology*, 2014, 59 (2): 713-723.

[3] Day C P. Non-alcoholic fatty liver disease; a massive problem [J]. *Clin Med*, 2011, 11 (2): 176-178.

[4] Roh Y S, Seki E. Toll-like receptors in alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and carcinogenesis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28 (1): 38-42.

[5] 孙晓琦. 加味泽泻汤对小鼠 NAFLD 肠道微生物干预作用的研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.

[6] 章蕴毅. 药理学实验指导 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 8.

[7] 刘文华, 齐越, 贾冬. 非酒精性脂肪肝实验模型研究概况 [J]. *上海中医药杂志*, 2015, 49 (3): 95-97.

[8] Kucera O, Cervinkova Z. Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20 (26): 8364-8376.

[9] 方南元, 孙晓琦, 薛博瑜, 等. 肠道微生物在非酒精性脂肪肝发病中的研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36 (2): 469-471.

[10] 陈杰, 张晶, 何秋水. Toll 样受体在非酒精性脂肪性肝病发生发展中的作用 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31 (7): 1153-1155.

[11] 殷小磊, 卢伟娜, 冯丽英. LPS/TLR4 信号途径在非酒精性脂肪性肝病中的作用 [J]. *世界华人消化杂志*, 2013, 21 (28): 2957-2962.

[12] 杨清高, 刘绍. p38 MAPK 信号通路与肝纤维化 [J]. *世界华人消化杂志*, 2012, 20 (24): 2231-2236.

[13] LIU H. TLR3/4 signaling is mediated via the NF κ B-CXCR4/7 pathway in human alcoholic hepatitis and non-alcoholic steatohepatitis which formed Mallory-Denk bodies [J]. *Exp Mol Pathol*, 2014, 97 (2): 234-240.

[14] Kawai T, Akira S. TLR signaling [J]. *Seminars in Immunology*, 2007, 19 (1): 24-32.

[15] 沈敏, 范怀艳, 韦嘉. Toll 样受体 4 与非酒精性脂肪性肝病的关系 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31 (4): 630-633.

[16] 邬皓晨. Caspase-1 在炎症及程序性细胞死亡过程中的作用 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 33 (2): 182-189.

[17] 徐朝阳, 叶放. 周仲瑛教授从痰湿瘀滞论治非酒精性脂肪性肝病经验 [J]. *中国现代医生*, 2012, 50 (36): 81-82.

[18] 孙晓琦, 方南元, 薛博瑜. 炎性小体在脂多糖诱导小鼠巨噬细胞中的表达及大黄素干预作用 [J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30 (10): 3747-3749.

[19] 张征波, 薛博瑜. 大黄素对非酒精性脂肪肝小鼠肝脂质沉积的作用及机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27 (9): 2423-2425.

[20] 田婷. 泽泻药理与毒理作用的研究进展 [J]. *中药材*, 2014, 37 (11): 2103-2108.

[21] 杨娥. 白术化学成分和药理作用的研究进展 [J]. *广东药学院学报*, 2012, 28 (2): 218-221.

[责任编辑 张丰丰]