

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2015.05.05

葛根素和小檗碱联合用药干预 NASH 细胞模型的实验研究

王允亮, 叶杨, 程佳伟, 高康丽, 赵唯含, 刘丽娟, 李军祥

(北京中医药大学东方医院 消化内科, 北京 100078)

摘要:[目的]探讨葛根素、小檗碱联合用药干预非酒精性脂肪性肝炎细胞模型的相关剂量及作用效果。[方法]用 500 $\mu\text{mol/L}$ 的 FFA 诱导 HepG2 细胞 24 h, 建立 NASH 细胞模型; 用不同浓度的葛根素、小檗碱单药及组合用药干预 NASH 细胞模型, MTT 法检测两种单体对细胞模型的安全药物浓度范围; 油红 O 染色观察细胞内脂肪变; Elisa 法检测细胞培养上清液中 TNF- α 、IL-8 及 GLUT4 水平。[结果]①NASH 细胞模型组培养液中 TNF- α 及 IL-8 含量明显高于空白对照组, GLUT4 含量明显低于空白对照组; ②不同浓度葛根素、小檗碱单用及联合用药干预组, 随着小檗碱、葛根素单独使用浓度的增加, IL-8、TNF- α 水平较模型组明显降低, GLUT4 含量显著增加, 细胞内红色脂滴减少; 单体联合用药后, IL-8、TNF- α 、GLUT4 水平及细胞内红色脂滴均较单独用药改善明显。[结论]葛根素、小檗碱组合用药在改善细胞病理、TNF- α 、IL-8、GLUT4 水平方面存在协同作用, 其组合用药效果较单独用药效果增强。细胞实验中, 基本能够确定在一定范围内, 小檗碱与葛根素组合比例在 1:40~1:10 为佳。

关键词:非酒精性脂肪性肝炎; 细胞模型; 葛根素; 小檗碱; 联合用药

中图分类号:R575.1

文献标志码:A

文章编号:1671-038X(2015)05-0321-06

Experimental studies of the combination effects of berberine and puerarin on NASH in vitro

WANG Yun-liang, YE Yang, CHENG Jia-wei, GAO Kang-li, ZHAO Wei-han,
LIU Li-juan, LI Jun-xiang

(Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China)

Corresponding author: LI Jun-Xiang, E-mail: lijunxiang1226@163.com

Abstract:[Objective]To discuss the combination effects of puerarin and berberine on NASH *in vitro*. [Methods]Liver cells HepG2 were cultured and induced by FFA to establish NASH model. Then different concentrations of puerarin and berberine combination with different proportions were meanwhile added. MTT was used to detect IL-8, TNF- α , and GLUT4 in supernatant. Oil red O staining was used to observe the adipose cells. [Results](1)The levels of TNF- α and IL-8 were significantly higher in model group than the control group, while GLUT4 significantly lower than control group. (2)Different concentrations of puerarin and berberine alone and combination in the intervention groups decreased lipid droplets significantly and increased GLUT4 level in a dose-dependent manner, with better results in the combination group than single usage of puerarin and berberine groups. [Conclusion]Combination of puerarin and berberine can improve cellular pathology and influence the levels of TNF- α , IL-8 and GLUT4, showing a synergistic effect.

Key words:NASH; cell model; puerarin; berberine; drug combination

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver

disease, NAFLD), 是一种与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)和遗传易感密切相关的代谢应激性肝损伤, 以肝实质细胞脂肪变性和甘油三酯(triglyceride, TG)蓄积(肝组织脂含量超过肝湿重的 5%以上, 或在组织学上有 1/3 以上肝细胞脂肪变)为特征, 病理学改变与酒精性肝病(alcoholic liver dis-

收稿日期: 2014-11-20

基金项目: 北京中医药大学创新团队资助(No: 2011-CXTD-24); 北京中医药大学自主选题(No: 2013-JYBZZ-XS-153); 王宝

恩肝纤维化研究基金(No: 2013-xjs)

通讯作者: 李军祥, E-mail: lijunxiang1226@163.com

ease, ALD)相似,但患者无过量饮酒史的临床病理综合征^[1],包括单纯性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver, NAFL)、脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)和肝硬化(non-alcoholic cirrhosis, NAFC)。从NAFL到NAC的转化过程中,NASH发挥着重要的限速作用,是隐源性肝硬化的重要原因之一^[2-3]。研究表明:NAFL预后较好,而NASH则预后不佳,约30%~40%的NASH合并进展性肝纤维化,10%~15%NASH患者可进展为肝硬化,3%进展至最终的肝衰竭,而9%~26%的NASH相关肝硬化患者在随访的4~10年内死亡^[4]。不仅如此,NASH相关肝硬化的肝癌发生率升高,且与丙型肝炎相关肝硬化的肝癌发病率接近^[5-7]。因此,开展对NASH的防治研究,对于阻止其进一步发展成肝硬化,降低肝硬化、肝癌发生率以及减少动脉粥样硬化性心脑血管疾病的发生具有重要意义^[8]。

目前,NASH的发病机制尚不明确,比较公认的是“二次打击”学说;胰岛素受体(IR)缺陷及糖转运障碍引起的胰岛素抵抗及炎症被认为与NASH发生发展密切相关^[9-11]。葛根素、小檗碱是中药葛根、黄连的主要单体成分;葛根、黄连配伍见于葛根芩连汤,常用于治疗糖尿病及溃疡性结肠炎等疾病^[12-13]。我们前期的研究发现,葛根芩连汤对NASH大鼠模型药效学作用显著^[14]。因此,本研究通过NASH细胞模型的建立,进一步研究葛根芩连汤主要单体成分葛根素、小檗碱干预NASH的效能,为完善葛根芩连汤干预NASH、指导临床提供更多的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

HepG2细胞由中国中医科学院基础所赠予;DMEM培养基、胎牛血清、青霉素、链霉素、0.25% trypsin-EDTA购自Gibco公司;牛血清白蛋白购自Roche公司;DMSO、油酸、棕榈酸、油红O购自Sigma公司;MTT试剂盒购自Promega公司;白介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司;葡萄糖转运蛋白4(GLUT4)酶联免疫试剂盒购自上海蓝基生物技术有限公司。葛根素(P,p)、小檗碱(B,b)(标准品)购自南京泽朗医药科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养方法 将HepG2细胞接种于含10%胎牛血清、10万U/L青链霉素的DMEM培养液的24孔板中,细胞培养同时放入盖玻片,使细胞贴壁于玻片上生长。置37℃、5% CO₂饱和湿度孵

育箱内培养。根据细胞生长情况,每2-3天用0.25%的胰蛋白酶-EDTA消化,进行传代培养。

1.2.2 NASH细胞模型的建立 参考文献^[15],根据预实验结果,接种HepG2于24孔板中,待细胞贴壁生长至60%~70%后,给予游离脂肪酸500 μ mol/L(按棕榈酸:油酸为1:2的摩尔比)刺激,时间为24 h。设3个平行孔。实验结束时留取细胞培养上清液后,用油红O染色镜下观察细胞浆内变化。

1.2.3 葛根素和小檗碱单用对NASH细胞模型细胞抑制率的影响 将HepG2细胞培养于96孔板中,待细胞贴壁生长至60%~70%后,给予游离脂肪酸500 μ mol/L(按棕榈酸:油酸为1:2的摩尔比)与不同浓度的葛根素/小檗碱(单用)共同刺激,时间为24 h。实验分别设不同浓度葛根素/小檗碱(单用)实验组、空白对照组,每组均设3个平行孔。用MTT比色法测定细胞增殖情况(以吸光度OD值表示),了解药物对细胞增殖的影响情况,实验重复3次。

抑制率 IR(%) = (1 - 实验组平均 OD 值 / 空白对照组平均 OD 值) × 100%

1.2.4 葛根素和小檗碱(单用及联合用药)对NASH细胞模型的干预 根据MTT抑制率所得结果,选取合适的葛根素/小檗碱(单用及联合用药,p500、p1000、p2000、b25、b50、b100、b25p1000、b50p500,单位 μ mol/L)对NASH细胞模型进行同期干预。将HepG2于24孔板中,待细胞贴壁生长至60-70%后,给予游离脂肪酸500 μ mol/L(按棕榈酸:油酸为1:2的摩尔比)+葛根素/小檗碱(单用及联合用药)刺激,时间为24 h。设6个平行孔。实验结束时留取细胞培养上清液后,用油红O染色镜下观察细胞浆内变化。

1.2.5 油红O染色观察并测定细胞内脂滴 油红O染色步骤如下:PBS液清洗细胞3次,4%多聚甲醛固定10 min,PBS液清洗细胞2次,60%异丙醇漂洗1 min,室温下油红O染色10 min,蒸馏水终止染色。显微镜下可见细胞内的中性脂肪可被特异性地染成红色。脂滴含量测定:蒸馏水终止染色直至将细胞外油红冲洗干净,用100%异丙醇将细胞膜破膜,细胞内被油红O着色的脂滴流出,震荡均匀后,酶标仪下读数。

1.2.6 细胞培养上清液中TNF- α 和IL-8及GLUT4的测定 待各组刺激时间到达后,收集细胞培养上清液,并低温离心(3 000 r/min),离心后按Elisa试剂盒说明书进行相关指标的检测。

1.3 统计学处理

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 葛根素和小檗碱单用对 NASH 细胞模型细胞抑制率的影响

葛根素和小檗碱单用对 NASH 细胞模型细胞抑制率的影响见图 1。

2.2 油红 O 染色对细胞内脂滴变化的观察

500 $\mu\text{mol/L}$ FFA 作用 NASH 模型组,可见细胞胞浆内被染成红色的颗粒状脂滴,并呈“印戒”状形态。不同浓度葛根素、小檗碱单用及联合用药(p500、p1000、p2000、b25、b50、b100、b25p1000、b50

p500,单位 $\mu\text{mol/L}$)干预组,可见细胞内红色脂滴有所减少,单体联合用药组优于同浓度单独用药组,基本达到小剂量联合用药效果不次于高剂量单独用药效果的目的。见图 2。

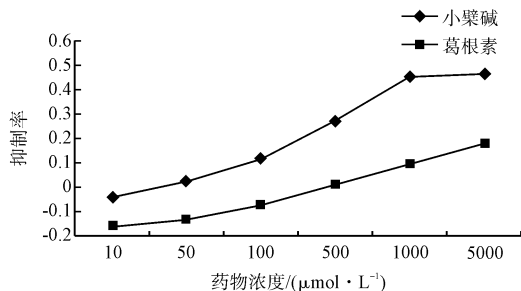
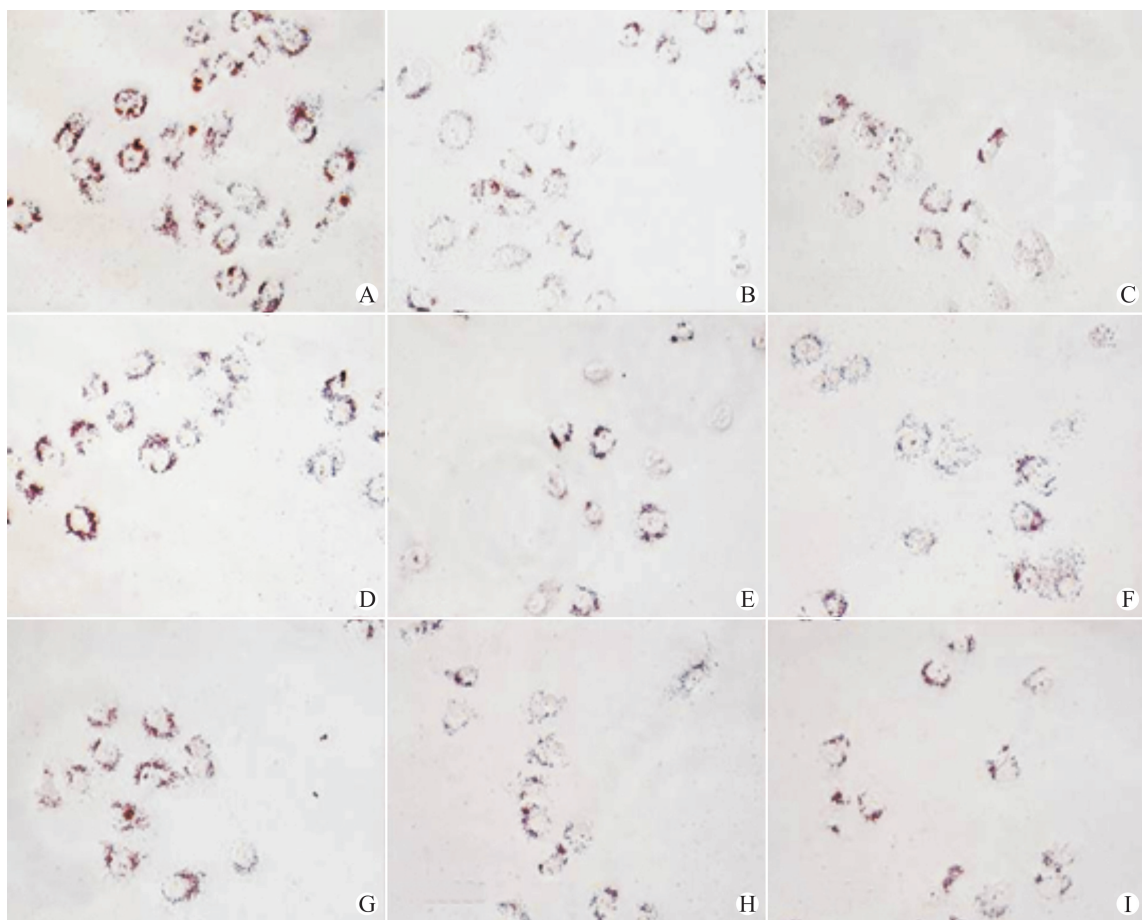


图 1 葛根素、小檗碱对 NASH 细胞模型 24 h 细胞抑制率



A: M; B: b25p1000; C: b50p500; D: b25; E: b50; F: b100; G: p500; H: p1000; I: p2000。

图 2 葛根素、小檗碱干预 NASH 细胞模型 24 h 油红 O 染色 $\times 400$

2.3 细胞脂滴含量变化测定

读取 OD 值进行分析,葛根素、小檗碱联合用药组较模型组及单药使用组均差异显著,具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1,图 3。

2.4 细胞培养上清液中 IL-8、TNF- α 及 GLUT4 的变化

500 $\mu\text{mol/L}$ FFA 刺激 24 h 后的 HepG2 细胞,其细胞培养上清液中炎症因子 TNF- α 及 IL-8 含量明显增加, GLUT4 含量明显下降,与空白对照组相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

随着小檗碱、葛根素单独使用浓度的增加, IL-8 水平较模型组明显降低,以 b50、b100、p2000 差异

明显($P < 0.05$);组合用药后 b25p1000、b50p500 均较模型组差异有统计学意义($P < 0.05$),b25p1000 较 b25 效果明显($P < 0.05$),b50p500 较 p500、p1000 效果明显($P < 0.05$)。

对于 TNF-a,随着小檗碱、葛根素单独使用浓度的增加,其上清液含量显著降低,均较模型组差异有统计学意义($P < 0.05$);组合用药后,b50 p500 较 b50 效果明显($P < 0.05$)。

表 1 葛根素、小檗碱单用及联合用药对 NASH 细胞模型脂滴含量的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	脂滴含量(OD值, 相对于模型组百分数)
b25p1000	6	0.75 ± 0.06 ¹⁾
b50p500	6	0.77 ± 0.05 ¹⁾
b25	6	0.97 ± 0.05 ²⁾³⁾
b50	6	0.95 ± 0.09 ²⁾³⁾
b100	6	0.93 ± 0.13 ²⁾³⁾
p500	6	0.96 ± 0.06 ²⁾³⁾
p1000	6	0.93 ± 0.06 ²⁾³⁾
p2000	6	0.92 ± 0.16 ²⁾³⁾
M	6	1.00 ± 0.00 ²⁾³⁾

与 M 组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与 b25p1000 比较,²⁾ $P < 0.05$;与 b50 p500 比较,³⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 葛根素和小檗碱单用及联合用药对 NASH 细胞模型 IL-8、TNF-a 和 GLUT4 分泌的影响 $\bar{x} \pm s$

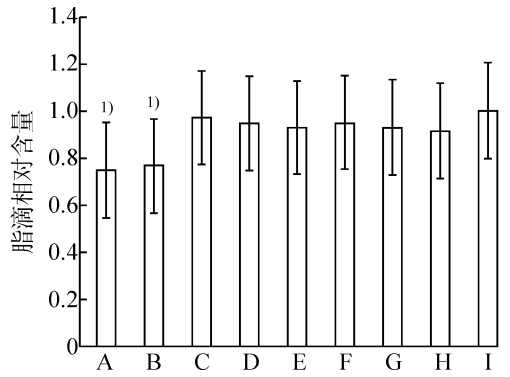
组别	例数	IL-8/(ng · L ⁻¹)	TNF-a/(ng · L ⁻¹)	GLUT4/(μg · L ⁻¹)
N	6	113.00 ± 10.90	102.56 ± 1.09	4.68 ± 0.55
M	6	306.00 ± 48.08 ¹⁾	213.50 ± 26.16 ¹⁾	0.45 ± 0.11 ¹⁾
b25	6	260.00 ± 19.80	146.00 ± 38.18 ²⁾	0.42 ± 0.12
p1000	6	230.00 ± 39.60	49.50 ± 12.02 ²⁾³⁾	2.70 ± 0.49 ²⁾³⁾
b25p1000	6	137.00 ± 12.73 ²⁾³⁾	104.50 ± 13.44 ²⁾⁴⁾⁵⁾	2.39 ± 0.20 ²⁾³⁾
b50	6	177.00 ± 38.18 ²⁾	66.00 ± 1.41 ²⁾³⁾	1.22 ± 0.17 ²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾
p2000	6	118.00 ± 59.40 ²⁾³⁾⁴⁾	27.00 ± 7.07 ²⁾³⁾	4.05 ± 0.12 ²⁾³⁾⁴⁾⁶⁾

与 N 组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与 M 组比较,²⁾ $P < 0.05$;与 b25 比较,³⁾ $P < 0.05$;与 p1000 比较,⁴⁾ $P < 0.05$;与 p2000 比较,⁵⁾ $P < 0.05$;与 b25p1000 比较,⁶⁾ $P < 0.05$ 。

表 3 葛根素和小檗碱单用及联合用药对 NASH 细胞模型 IL-8、TNF-a 和 GLUT4 分泌的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	IL-8(pg/ml)	TNF-a(pg/ml)	GLUT4(ng/ml)
N	6	113.00 ± 10.90	102.56 ± 1.09	4.68 ± 0.55
M	6	306.00 ± 48.08 ¹⁾	213.50 ± 26.16 ¹⁾	0.45 ± 0.11 ¹⁾
b50	6	177.00 ± 38.18 ²⁾	66.00 ± 1.41 ²⁾	1.22 ± 0.17 ²⁾
p500	6	253.00 ± 38.18	44.00 ± 7.07 ²⁾	2.49 ± 0.16 ²⁾⁵⁾
b50p500	6	89.00 ± 24.04 ²⁾³⁾⁴⁾	28.00 ± 1.41 ²⁾⁵⁾	2.68 ± 0.15 ²⁾⁵⁾
b100	6	126.00 ± 56.57 ²⁾³⁾	50.50 ± 0.71 ²⁾	1.30 ± 0.85 ²⁾³⁾⁴⁾⁶⁾
p1000	6	230.00 ± 39.60	49.50 ± 12.02 ²⁾	2.70 ± 0.49 ²⁾⁵⁾

与 N 组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与 M 组比较,²⁾ $P < 0.05$;与 p500 比较,³⁾ $P < 0.05$;与 p1000 比较,⁴⁾ $P < 0.05$;与 b50 比较,⁵⁾ $P < 0.05$;与 b50p500 比较,⁶⁾ $P < 0.05$ 。



A: b25p1000; B: b50p500; C: b25; D: b50; E: b100; F: p500; G: p1000; H: p2000; I: 模型组。与 C-I 组比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。

图 3 葛根素、小檗碱单用及联合用药对 NASH 细胞模型脂滴含量的影响

对于 GLUT4,随着小檗碱、葛根素单独使用浓度的增加,其上清液含量显著增加,以 b50、b100、p500、p1000、p2000 较模型组差异有统计学意义($P < 0.05$),且葛根素对于增加 GLUT4 含量作用优于小檗碱;组合用药后,GLUT4 含量的变化优于小檗碱单独使用,b25p1000 在加入葛根素后较 b25、b50 效果明显增强($P < 0.05$),b50 p500 较 b50、b100 效果明显增加($P < 0.05$)见表 2、表 3。

3 讨论

近年来,随着胰岛素抵抗及其相关的多元代谢综合征的高发,NAFLD/NASH 的患病率逐渐升高,已成为慢性肝病的首要病因。发展研究预防 NAFLD/NASH 的可靠药物已十分重要。中药复方及单体对改善脂肪肝临床症状、肝功能、肝脏 B 超、降血脂等方面有明显疗效,其治疗慢性肝病前景广阔。

本研究前期发现,葛根芩连汤对实验性非酒精性脂肪性肝炎大鼠及细胞模型均具有较好的疗效^[14]。然而,复方成分的复杂性限制了其深入研究。为此,在明确中药复方有效性的基础上,本实验进一步从中药单体及单体组合的角度对其中葛根、黄连二药中主要单体葛根素、小檗碱进行了初步疗效探索。

葛根素^[16]为黄酮类化合物,是葛根主要有效成分。现代药理研究表明,其具有提高免疫,增强心肌收缩力,保护心肌细胞,降低血压,抗血小板聚集等作用;具有明显的降低 TG、TC 和肝指数,改善脂肪变性,降低肝脏炎症的作用。小檗碱^[17]为一种常见的异喹啉生物碱,是黄连主要成分。现代药理研究发现,其具有抑菌,阻断 α -受体,抗心律失常的作用,能有效改善胰岛素抵抗,提高胰岛素敏感性,且具有降 ALT、AST 及 GGT 的作用,以及降糖和调脂的功效。

本研究数据显示:与 500 $\mu\text{mol/L}$ FFA 作用 NASH 模型组相比,不同浓度葛根素、小檗碱单用及联合用药(p500、p1000、p2000、b25、b50、b100、b25p1000、b50p500,单位 $\mu\text{mol/L}$)干预组,可见细胞内红色脂滴有所减少,单体联合用药组优于同浓度单独用药组,基本达到小剂量联合用药效果不次于高剂量单独用药效果的目的。同时,通过对细胞内油红 O 含量的光密度值测定,我们发现:葛根素、小檗碱联合用药组较模型组及单药组均差异显著,能明显减低细胞内脂肪含量,改善脂肪变。

随着小檗碱、葛根素单独使用浓度的增加,IL-8 水平较模型组明显降低,以 b50、b100、p2000 差异明显;组合用药后 b25p1000、b50p500 均较模型组有统计学意义,b25p1000 较 b25 效果明显,b50p500 较 p500、p1000 效果明显。提示对于 IL-8,葛根素、小檗碱存在协同作用,其组合用药效果较单独用药效果增强。

对于 TNF- α ,随着小檗碱、葛根素单独使用浓度的增加,其上清液含量显著降低,均较模型组用统计学差异;组合用药后,b50p500 较 b50 效果明显。提示对于 TNF- α ,葛根素、小檗碱单独使用即可明

显降低其含量,组合使用时效果更加明显,协同作用显著。

对于 GLUT4,随着小檗碱、葛根素单独使用浓度的增加,其上清液含量显著增加,以 b50、b100、p500、p1000、p2000 较模型组用统计学差异,且葛根素对于增加 GLUT4 含量作用优于小檗碱;组合用药后,GLUT4 含量的变化优于小檗碱单独使用,b25p1000 在加入葛根素后较 b25、b50 效果明显增强,b50p500 较 b50、b100 效果明显增加。提示对于 GLUT4,葛根素、小檗碱单独使用即可明显增加其含量,且葛根素优于小檗碱,组合使用时效果更加明显,协同作用显著,其组合用药效果较单独用药效果增强。

炎症因子的过表达是导致 NASH 的重要原因^[18],胰岛素受体表达缺陷^[19]、糖转运功能的丧失^[20]也是直接导致胰岛素抵抗的关键因素。因糖转运障碍等造成的胰岛素抵抗和炎症正是 NASH 发病发展中的重要环节。本研究提示不同浓度葛根素、小檗碱单用及联合用药(p500、p1000、p2000、b25、b50、b100、b25p1000、b50p500,单位 $\mu\text{mol/L}$)干预组,油红 O 染色可见细胞内红色脂滴有所减少;在改善 TNF- α 、IL-8、GLUT4 方面,葛根素、小檗碱存在协同作用,基本能够确定体外实验中,在一定范围内,葛根素与小檗碱组合比例在 40:1-10:1 为佳,提示其既在 NASH“第一次打击”糖脂代谢方面发挥效果,又在“第二次打击”炎症调控方面体现优势,表明其在干预 NASH 方面的积极作用。

本实验仅对葛根、黄连中较易获得且含量较高的两种单体葛根素及小檗碱进行了组合研究。所挑单体在一定程度上具有局限性,但结果与前期整体实验^[14]一致。可以肯定的说,葛根素、小檗碱是葛根芩连汤中发挥作用的部分,其联合使用也达到了单独使用所不具备的效果。然而,更系统的作用通路研究及单体组合研究仍需进一步开展。

参考文献

- [1] 萧树东,许国铭主编.中华胃肠病学[M].北京:人民卫生出版社出版,2008,591—597.
- [2] POWELL E E, COOKSLEY W G, HANSON R, et al. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years [J]. Hepatology, 1990, 11:74—80.
- [3] CALDWELL S H, CRESPO D M. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease[J]. J Hepatol, 2004, 40:578—584.
- [4] KASHI M R, TORRES D M, HARRISON S A. Current and emerging therapies in nonalcoholic fatty liver

- disease[J]. *Semin Liver Dis*, 2008, 28:396-406.
- [5] 蒋树林. 非酒精性脂肪性肝病的流行病学和自然史[J]. *中国全科医学*, 2007, 10(24):2021-2027.
- [6] SHIMADA M, HASHIMOTO E, TANIAI M, et al. Hepatocellular carcinoma in patients with non-alcoholic steatohepatitis[J]. *J Hepatol*, 2002, 37:154-160.
- [7] 肖利力. 北京地区部分健康人群超声检查结果分析[J]. *中国国境卫生检疫杂志*, 2005, 28(2):70-71.
- [8] SMITH B W, ADAMS L A. Non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2011, 48:97-113.
- [9] 丁效蕙, 赵景民. 非酒精性脂肪性肝炎的发病机制及治疗的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2005, 13(3):371-375.
- [10] LASZLO ROMICS, JR, KAREN KODYS, ANGELA DOLANIUC, et al. Diverse Regulation of NF- κ B and Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in Murine Nonalcoholic fatty liver[J]. *Hepatology*, 2004, 2:376-384.
- [11] WALTER W, MICHALIK L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2012, 23(7):351-363.
- [12] 赵林华, 姬航宇, 仝小林, 等. 葛根芩连汤治疗糖尿病理论探讨[J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(2):280-283.
- [13] 王浩, 徐明, 王思程. 葛根芩连汤对溃疡性结肠炎模型大鼠血清 Bcl-2、TGF- β 1 的影响[J]. *四川中医*, 2011, 29(11):12-14.
- [14] 续畅, 王允亮, 李军祥, 等. 葛根芩连汤对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝炎的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(4):546-552.
- [15] Norberto C Chavez-Tapia, Natalia Rosso, Claudio Tiribelli. Effect of intracellular lipid accumulation in a new model of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *BMC Gastroenterol*, 2012, 12:20-20.
- [16] 高风英. 葛根素药理作用的研究进展[J]. *中草药*, 2003, 34(12):7-8.
- [17] 李波, 朱维良, 陈凯先. 小檗碱及其衍生物的研究进展[J]. *药学报*, 2008, 43(8):773-787.
- [18] FARRELL G C, van ROOYEN D, GAN L, et al. NASH is an Inflammatory Disorder: Pathogenic, Prognostic and Therapeutic Implications[J]. *Gut Liver*, 2012, 6:149-171.
- [19] 郭启煜. 胰岛素受体与胰岛素抵抗[J]. *海军总医院学报*, 1999, 12(2):88-90.
- [20] 宋春宇, 毕会民. 葛根素对大鼠胰岛素刺激下骨骼肌细胞膜 GLUT4 蛋白含量的影响[J]. *中国中药杂志*, 2004, 29(2):172-175.

《中国中西医结合消化杂志》编辑部严正声明

近日,本刊编辑部频繁接到作者举报,有机构冒充本刊采编部的名义进行论文代写及快速发表业务。严重侵犯本刊的合法权益,损害本刊的名誉。本刊特严正声明如下:

1. 本刊严格遵守和执行新闻出版的有关法律、法规和管理规定,从未在全国任何地方设立过分支机构、分部和代办点;从未委托任何人或组织进行组稿、征稿、代发论文及快速发表活动。

2. 中国标准连续出版物号 CN 42-1612/R,国际标准连续出版物号 ISSN 1671-038X 为本刊出版物和编辑部设在湖北武汉的特定登记号,凡在湖北武汉以外出现的 CN 42-1612/R 刊号的出版物和编辑出版机构都是非法冒充的。

3. 本刊唯一联系地址:湖北省武汉市解放大道 1277 号 协和医院杂志社,邮编:430022;官方网站:www.whuhzss.com;联系电话:027-85726342-8034;E-mail: zxyjhxhzz@qq.com。

4. 敬请广大作者、读者务必认准本刊刊号和编辑部地址及电话,谨防上当受骗。