

蓝莓对小鼠急性酒精性脂肪肝 TNF- α -R1 和 SREBP-1c 影响的初步研究

赵雪珂¹, 吴荣敏², 姚玉梅¹, 张宝芳¹, 国惠¹, 何小慧¹

(1. 贵阳医学院附属医院感染科, 贵阳 550004; 2. 贵州省妇幼保健院功能科, 贵阳 550003)

【摘要】目的:观察蓝莓对急性酒精性脂肪肝 (alcoholic fatty liver, AFL) 小鼠肝组织中肿瘤坏死因子- α -受体 1 (tumor necrosis factor- α -receptor1, TNF- α -R1)、胆固醇调节元件结合蛋白 (sterol regulatory element-binding protein, SREBP)-1c mRNA 及蛋白表达的影响。**方法:**50 只 C57BL/6 雄性小鼠随机分为空白组、模型组、蓝莓汁高剂量组 (20.0 g/kg)、蓝莓汁低剂量组 (10.0 g/kg)、硫普罗宁组 (30 mg/kg), 每组 10 只。除空白组外, 其余各组小鼠分别予 Lieber-DeCarli 酒精饲料喂饲, 蓝莓汁高、低剂量组及硫普罗宁组同时分别予相应剂量蓝莓汁或硫普罗宁灌胃 1 次/d, 连续 15 d, 第 16 天给予 1 次乙醇灌胃, 建立急性 AFL 动物模型。全自动生化分析仪测定血清丙氨酸氨基转移酶 (alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST)、甘油三酯 (triglycerides, TG) 及胆固醇 (cholesterol, TC), 酶联免疫吸附法检测血清 TNF- α , 光镜下观察小鼠肝脏病理学变化, RT-PCR、Western blot 检测小鼠肝组织中 TNF- α -R1、SREBP-1c mRNA 及蛋白质表达。**结果:**蓝莓汁高、低剂量组和硫普罗宁组小鼠血清 ALT 分别为 (67.70 $\pm$ 5.86)、(81.66 $\pm$ 4.93)、(63.49 $\pm$ 3.27) U/L, AST 分别为 (184.46 $\pm$ 14.57)、(214.45 $\pm$ 22.03)、(169.16 $\pm$ 18.52) U/L, TG 分别为 (0.88 $\pm$ 0.06)、(1.22 $\pm$ 0.08)、(0.81 $\pm$ 0.09) mmol/L, TC 分别为 (2.30 $\pm$ 0.13)、(2.74 $\pm$ 0.10)、(2.21 $\pm$ 0.16) mmol/L, TNF 分别为 (49.14 $\pm$ 6.14)、(66.55 $\pm$ 5.67)、(44.68 $\pm$ 5.39) ng/L, 均显著低于模型组 ($P=0.000$ 或 $P=0.025$), 肝细胞病理学改变明显轻于模型组 ($P=0.000$); 蓝莓汁高、低剂量组和硫普罗宁组小鼠肝组织 TNF- α -R1 mRNA 表达分别为 100.44 $\pm$ 9.51、132.70 $\pm$ 8.07、94.02 $\pm$ 6.05, 蛋白表达分别为 0.52 $\pm$ 0.04、0.72 $\pm$ 0.04、0.49 $\pm$ 0.04, SREBP-1c mRNA 表达分别为 133.52 $\pm$ 5.91、174.51 $\pm$ 10.62、129.83 $\pm$ 9.83, 蛋白表达分别为 0.26 $\pm$ 0.05、0.41 $\pm$ 0.03、0.23 $\pm$ 0.05, 均明显低于模型组 (均 $P=0.000$)。**结论:**蓝莓能改善小鼠急性 AFL, 可能与下调其肝组织 TNF- α -R1 与 SREBP-1c 的表达有关。

【关键词】蓝莓; 酒精性脂肪肝; 肿瘤坏死因子; 胆固醇调节元件结合蛋白

【中图分类号】R575.1

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-09-29

Effects of blueberry on the expression of TNF- α -R1 and SREBP-1c in acute alcoholic fatty liver

Zhao Xueke¹, Wu Rongmin², Yao Yumei¹, Zhang Baofang¹, Guo Hui¹, He Xiaohui¹

(1. Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College;

2. Department of B Ultrasound, Maternal and Child Health Hospital of Guizhou Province)

【Abstract】Objective: To observe the effect of blueberry on the mRNA and protein expression of tumor necrosis factor (TNF)- α -R1 and sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1c in acute alcoholic fatty liver (AFL). **Methods:** A total of 50 male C57BL/6 mice were randomly divided into normal control group (A), model group (B), high dose blueberry group (20.0 g/kg) (C), low dose blueberry group (10.0 g/kg) (D), and tiopronin group (30 mg/kg) (E), 10 in each group. All mice except those in group A were fed with the Lieber-DeCarli diet for 15 d and were gastrogavaged with alcohol on the 16th day to induce AFL model. Mice in groups C-E were respectively administered with corresponding drugs by gastrogavage, once per day for 15 d. Detection of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), triglycerides (TG) and cholesterol (TC) in serum were performed by an automatic biochemical analyser. The level of TNF- α in serum was determined by an enzyme-linked immunosorbent assay. The morphological changes of the liver tissue were observed by HE staining. The mRNA and protein expressions of TNF- α -R1 and SREBP-1c in the liver tissue were determined by RT-PCR and Western blot, respectively. **Results:** Compared with those in group B, the levels of ALT, AST, TG, TC and TNF- α in serum were significantly lower ($P=0.000$ or $P=0.025$), the degree of hepatic steatosis and degen-

作者介绍: 赵雪珂, Email: zhaoxueke1@163.com,

研究方向: 肝脏疾病防治研究。

通信作者: 吴荣敏, Email: sadie3366@aliyun.com。

基金项目: 贵州省科技厅社会攻关资助项目 (编号: 黔科合 SY[2010] 3017号); 黔东南苗族侗族自治州林业局科研基金资助项目 (编号: ZLYJZFCG-2012-7)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150308.2200.009.html> (2015-03-08)

erative necrosis were significantly improved in groups C-E ($P=0.000$), and the mRNA and protein expression of TNF- α -R1 and SREBP-1c were significantly lower in groups C-E (all $P=0.000$). **Conclusion:** Blue berry has a good protective effect on acute AFL in mice, the mechanism is probably related to the inhibition of the expression of TNF- α -R1 and SREBP-1c.

[Key words] blueberry; alcoholic fatty liver; tumor necrosis factor; sterol regulatory element-binding protein

酒精性脂肪肝 (alcoholic fatty liver, AFL) 是乙醇所致肝损伤的早期病理改变, 可进展为酒精性肝炎、肝纤维化、肝硬化等^[1], 其发生机制与乙醇代谢诱导氧化应激, 刺激枯否细胞产生并释放肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF), 进一步激活其下游信号因子胆固醇调节元件结合蛋白 (sterol regulatory element-binding protein, SREBP)-1 有关^[2]。蓝莓有良好抗氧化功能, 可减轻肝损伤^[3-4], 而蓝莓对 AFL 发生发展是否存在抑制作用, 目前尚不明了。本实验拟进一步观察蓝莓对急性 AFL 小鼠肝组织中 TNF- α -R1 与 SREBP-1c 表达的影响, 以探讨其对 AFL 的干预作用。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

蓝莓由贵州省麻江县蓝莓基地提供, 兔眼品种, -20°C 保存, 临用时解冻榨汁, 2 g 干果榨汁 1 ml, 硫普罗宁 (河南省新谊药业股份有限公司, 批号: 120306), Lieber-DeCarli 高脂肪型酒精液体饲料购自南通特洛非饲料科技有限公司。C57BL/6 雄性小鼠 50 只, 8 周龄, 清洁级, 体质量 (21 ± 2) g, 购于贵阳医学院动物实验中心 (批号: SYXK 黔 2012-0001)。TNF- α 酶联免疫吸附法检测试剂盒 (南京建成, 批号: 20120125), 逆转录试剂盒 (加拿大 Fermentas MBI, 批号: 00086325), 电化学发光 (ECL) 试剂盒 (美国 Millipore, 批号: 29236), 全蛋白提取试剂盒 (南京凯基生物, 批号: KGP250), BCA 蛋白定量试剂盒 (美国 Thermo SCIENTIFIC, 批号: 23268), TNF- α -R1、SREBP-1c 一抗 (英国 abcam, 批号: ab19139, ab3259)。TNF- α -R1 上、下游引物序列分别为 5'-ACCAAGTGCCAC AAAG-GAAC-3' 和 5'-CTGCAATTGAAGCACTGGAA-3', 213 bp; SREBP-1c 上、下游引物序列分别为 5'-TGC GGCTGTTGTC-TACCATA-3' 和 5'-GCGGGCGCTGCTCAGGAAGAAA-3', 235 bp; β -actin 上、下游引物序列分别为 5'-TCCTCTGAGCG-CAAGTACTCT-3' 和 5'-GCTCAGTAACAGTCCGCCTAGAA-3', 1 536 bp, 上海生工生物工程有限公司合成。核酸定量仪 (美国 Amersham Biosciences), 核酸扩增实时荧光检测系统 (DA7 600 型, 中山大学达安基因), Gel Doc EQ 凝胶成像仪 (美国 Bio-Rad), 752 紫外分光光度计 (上海菁华科技)、显微图像采集系统 (日本 Olympus) 等。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 小鼠随机分为空白组 (A 组)、模型组 (B 组)、蓝莓汁高剂量组 (20.0 g/kg) (C 组)、蓝莓汁低剂量组 (10.0 g/kg) (D 组)^[5]、硫普罗宁组 (30 mg/kg) (E 组)^[6], 每组 10 只。A 组小鼠普通饲料喂饲, 参照酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 动物建模文献并进行改进^[7], B~E 组小鼠分别予 Lieber-DeCarli 酒精饲料喂饲, 同时, C~E 组分别予相应剂量蓝莓汁或硫普罗宁灌胃 1 次/d, A 组、B 组灌胃等容量 0.9% 氯化钠溶液, 连续 15 d; 至第 16 天清晨, A 组予 45% 糊精溶液、B~E 组予 31.5% 酒精溶液灌胃 1 次, 灌胃溶液体积 (μl) = 体质量 (g) $\times$ 20, 建立急性 AFL 动物模型。小鼠于末次灌胃 9 h 后处死, 常规留取血清, 全自动生化分析仪测定丙氨酰氨基转移酶 (alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST)、甘油三酯 (triglycerides, TG) 及胆固醇 (cholesterol, TC), 按试剂盒说明检测血清 TNF。

1.2.2 肝组织形态学观察 取相同部位肝组织, 4% 甲醛固定, 石蜡包埋, 切片, 行 HE 染色, 光镜下观察肝脏病理变化。

1.2.3 RT-PCR 检测 TNF- α -R1、SREBP-1c 基因转录水平 采用 Trizol-酚-氯仿一步法提取总 RNA 并纯化, 测定 RNA 浓度, 逆转录合成 cDNA 后行 RT-PCR。实验过程中以 β -actin 作内对照, 进行标准化转换得到各样本的拷贝数 (Ct 值)。以 Ct 值的均数来反映目的基因的表达。

1.2.4 Western blot 检测 TNF- α -R1、SREBP-1c 蛋白的表达 提取蛋白并测定蛋白含量, 取蛋白质样品 40 μg , 10% SDS-PAGE 电泳、转膜、封闭, 分别用 TNF- α -R1 抗体 (1:1 000)、SREBP-1c 抗体 (1:1 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 二抗 (1:3 000) 室温 1 h, ECL 曝光显影, Gel Doc EQ 凝胶成像仪扫描, Quantity One 软件分析结果。以 β -actin 表达水平作为内参照, 目标蛋白的表达量以目标蛋白与内参照蛋白灰度值的相对比值表示。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件行数据分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较用单因素方差分析, 分析前行方差齐性检验, 方差齐时用 LSD- t 法, 方差不齐时用 Tamhane 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

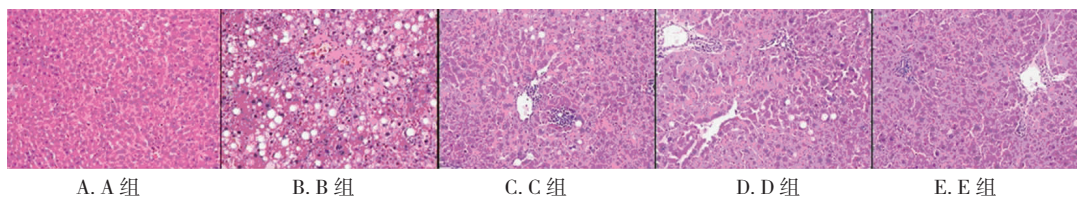
2.1 各组小鼠血清 ALT、AST、TG、TC、TNF- α 比较

与 A 组相比, B 组、C 组、D 组及 E 组均明显增高 (均 $P=0.000$), 与 B 组相比, C、D、E 组均明显降低 (均 $P=0.000$), 与 D 组相比, C、E 组明显降低 ($P=0.000$ 或 $P=0.025$), 见表 1。

表 1 各组小鼠血清 ALT、AST、TG、TC、TNF- α 检测 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Tab.1 Comparison of serum levels of ALT,AST,TG,TC and TNF- α among groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	ALT(U/L)	AST(U/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	TNF- α (ng/L)
A 组	41.02 $\pm$ 4.27	92.56 $\pm$ 4.68	0.58 $\pm$ 0.07	1.78 $\pm$ 0.09	30.10 $\pm$ 5.25
B 组	101.46 $\pm$ 7.15 ^a	301.45 $\pm$ 14.70 ^a	1.50 $\pm$ 0.10 ^a	3.24 $\pm$ 0.22 ^a	85.87 $\pm$ 7.49 ^a
C 组	67.70 $\pm$ 5.86 ^{abc}	184.46 $\pm$ 14.57 ^{abc}	0.88 $\pm$ 0.06 ^{abc}	2.30 $\pm$ 0.13 ^{abc}	49.14 $\pm$ 6.14 ^{abc}
D 组	81.66 $\pm$ 4.93 ^{ab}	214.45 $\pm$ 22.03 ^{ab}	1.22 $\pm$ 0.08 ^{ab}	2.74 $\pm$ 0.10 ^{ab}	66.55 $\pm$ 5.67 ^{ab}
E 组	63.49 $\pm$ 3.27 ^{abc}	169.16 $\pm$ 18.52 ^{abc}	0.81 $\pm$ 0.09 ^{abc}	2.21 $\pm$ 0.16 ^{abc}	44.68 $\pm$ 5.39 ^{abc}
F 值	180.647	224.196	179.797	132.405	126.288
P 值	0.000	0.000 或 0.025	0.000	0.000	0.000

注:a,与 A 组比较, $P=0.000$;b,与 B 组比较, $P=0.000$;c,与 C 组比较, $P=0.000$;d,与 D 组比较, $P=0.025$

图 1 各组小鼠肝组织病理学形态观察 (HE 染色, 200 $\times$)Fig.1 Pathological morphology of hepatic tissues of mice in each group (HE staining, 200 $\times$)表 2 各组小鼠肝组织 TNF- α -R1、SREBP-1c 的 mRNA 及蛋白质相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Tab.2 Comparison of mRNA and protein expression of TNF- α -R1 and SREBP-1c among groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	TNF- α -R1		SREBP-1c	
	mRNA	蛋白质	mRNA	蛋白质
A 组	77.65 $\pm$ 8.86	0.20 $\pm$ 0.04	98.08 $\pm$ 9.54	0.12 $\pm$ 0.03
B 组	168.09 $\pm$ 9.01 ^a	0.94 $\pm$ 0.06 ^a	196.37 $\pm$ 16.37 ^a	0.71 $\pm$ 0.06 ^a
C 组	100.44 $\pm$ 9.51 ^{abc}	0.52 $\pm$ 0.04 ^{abc}	133.52 $\pm$ 5.91 ^{abc}	0.26 $\pm$ 0.05 ^{abc}
D 组	132.70 $\pm$ 8.07 ^{ab}	0.72 $\pm$ 0.04 ^{ab}	174.51 $\pm$ 10.62 ^{ab}	0.41 $\pm$ 0.03 ^{ab}
E 组	94.02 $\pm$ 6.05 ^{abc}	0.49 $\pm$ 0.04 ^{abc}	129.83 $\pm$ 9.83 ^{abc}	0.23 $\pm$ 0.05 ^{abc}
F 值	183.647	303.664	125.515	210.303
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

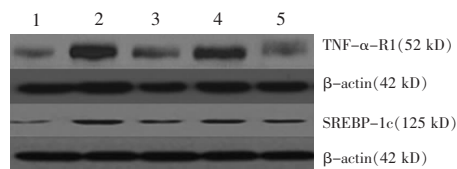
注:a,与 A 组比较, $P=0.000$;b,与 B 组比较, $P=0.000$;c,与 D 组比较, $P=0.000$

2.2 各组小鼠肝组织病理学改变

A 组小鼠肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝索排列整齐,肝小叶结构清晰,肝细胞无变性、坏死,汇管区无炎性细胞浸润。B 组小鼠肝细胞弥漫性水肿及明显脂肪变性,中央静脉周围可见肝细胞片状坏死和炎性细胞浸润。C、D、E 组小鼠肝细胞水肿程度较 B 组明显减轻,脂肪变性及肝细胞坏死程度也明显改善,大部分病例肝细胞未见坏死,仅少部分病例可见肝细胞点状坏死($P=0.000$),见图 1。

2.3 各组小鼠肝组织 TNF- α -R1、SREBP-1c mRNA 和蛋白表达水平的比较

与 A 组相比,B~E 组均明显增高(均 $P=0.000$),与 B 组相比,C、D、E 组均明显降低(均 $P=0.000$),与 D 组相比,C、E 组明显降低(均 $P=0.000$),见表 2、图 2。



1. A 组;2. B 组;3. C 组;4. D 组;5. E 组

图 2 Western blot 检测各组小鼠肝组织 TNF- α -R1、SREBP-1c 蛋白的表达Fig.2 TNF- α -R1 and SREBP-1c expression in mice of each group detected by Western blot

3 讨论

AFL 是以过量乙醇摄入后引起肝脏内脂质过度积聚为特征性疾病,其发生机制复杂,是涉及多

种细胞因子参与的瀑布式级联反应的最终病理结局^[1,8]。乙醇或其中间代谢产物乙醛可激活枯否细胞,刺激大量细胞因子分泌,TNF- α 是其中主要成分,可作为第一介质,引起多种与肝损伤相关的第二介质的合成及释放^[2,9]。TNF- α 与其受体 TNF- α -R1 相结合后,进一步激活下游因子 SREBP-1c,激活的 SREBP-1c 可上调其下游脂肪酸合成酶和乙酰辅酶A 羧化酶等靶基因的表达,继而引起肝脏脂质如TG、TC的合成增加^[10-11]。文献载,抑制 TNF- α -R1 或SREBP-1c 的表达,可改善 AFL^[12-13]。

蓝莓富含花青素等多种抗氧化物质,被联合国粮农组织列为全球五大健康食品之一。本课题组前期研究发现,蓝莓可上调小鼠肝脏抗氧化因子如金属硫蛋白、核转录相关因子 2、血色素加氧酶-1 及醌氧化还原酶的表达,减轻四氯化碳所致大鼠急性肝损伤或肝纤维化^[5,14-16]。而蓝莓对 AFL 发生发展是否存在一定干预作用,尚缺系统文献报道。本实验参照改进的 ALD 造模方法^[7],用 Lieber-DeCarli 酒精饲料喂饲加末次酒精灌胃复制小鼠急性 AFL 模型,检测 TNF- α -R1、SREBP-1c 在小鼠肝脏的表达,并以对 AFL 具有确切疗效的药物硫普罗宁作为阳性对照^[17],观察蓝莓对小鼠肝组织中 TNF- α -R1、SREBP-1c 表达的影响,探讨蓝莓对小鼠急性 AFL 的干预效果及可能机制。

结果显示:通过连续 15 d Lieber-DeCarli 酒精饲料喂饲加第 16 天末次酒精灌胃,成功复制小鼠急性 AFL 模型,表现为模型组小鼠肝功能指标异常(ALT、AST 显著升高,且 AST 上升幅度更为明显)、血清 TG、TC 明显升高,肝细胞明显脂肪变性及炎性细胞浸润等。同时,模型组小鼠血清 TNF- α 明显高于空白组,且肝组织 TNF- α -R1、SREBP-1c 的表达较空白组显著升高,说明小鼠急性 AFL 进程中,TNF- α 生成增多,进一步刺激 TNF- α -R1 表达,并上调下游因子 SREBP-1c,可能是小鼠急性 AFL 的发病机制之一。

对蓝莓汁干预组小鼠的检测发现,血清 ALT、AST、TG、TC 及 TNF- α 水平显著低于模型组,肝细胞脂肪变性及坏死程度显著减轻,高剂量组与硫普罗宁组相当。表明蓝莓可改善肝功能及减少脂质合成,减轻肝损伤程度,对小鼠急性 AFL 的发生发展具有一定抑制作用。对小鼠肝组织中 TNF- α -R1、SREBP-1c 的检测发现,蓝莓汁干预组 TNF- α -R1、SREBP-1c mRNA 及蛋白表达均明显低于模型组,且上述指标在高、低剂量组之间存在显著差异,提示两组间存在一定量效关系。笔者推测,蓝莓能改善

小鼠急性 AFL,可能与下调 TNF- α -R1、SREBP-1c 的表达有关,但其作用机制仍需进一步探索。

参 考 文 献

- [1] Torruellas C, French SW, Medici V. Diagnosis of alcoholic liver disease[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(33): 11684-11699.
- [2] Purohit V, Gao B, Song BJ. Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2009, 33(2): 191-205.
- [3] 陆爽, 程明亮, 李宏, 等. 蓝莓对大鼠肝纤维化及肝细胞超微结构的影响[J]. 中华医学杂志, 2012, 92(13): 927-931.
- [4] 李宏, 杨勤, 程明亮, 等. 蓝莓对免疫性肝纤维化大鼠肝组织 TLR4、TLR9 表达的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(18): 1609-1615.
- [5] 王豫萍, 程明亮, 张宝芳. 蓝莓对急性肝损伤大鼠抗氧化能力的影响[J]. 肝脏, 2012, 17(9): 633-635.
- [6] 陈震, 吕雄文, 李俊, 等. 咖啡因对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 安徽医科大学学报, 2009, 44(3): 359-362.
- [7] Bertola A, Mathews S, Ki SH, et al. Mouse model of chronic and binge ethanol feeding (the NIAAA model)[J]. Nat Protoc, 2013, 8(3): 627-637.
- [8] 冷爱民, 王德强, 袁伟建, 等. 汉族人群酒精性肝病 ALDH2 和 CYP2E1 基因多态性研究[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33(9): 1108-1110.
- [9] Pritchard MT, McMullen MR, Stavitsky AB, et al. Differential contributions of C3, C5, and decay-accelerating factor to ethanol-induced fatty liver in mice[J]. Gastroenterology, 2007, 132(3): 1117-1126.
- [10] Ji C, Deng Q, Kaplowitz N. Role of TNF- α in ethanol-induced hyperhomocysteinemia and murine alcoholic liver injury[J]. Hepatology, 2004, 40(2): 442-451.
- [11] Higuchi N, Kato M, Shundo Y, et al. Liver X receptor in cooperation with SREBP-1c is a major lipid synthesis regulator in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatol Res, 2008, 38(11): 1122-1129.
- [12] Yin M, Wheeler MD, Kono H, et al. Essential role of tumor necrosis factor α in alcohol-induced liver injury in mice[J]. Gastroenterology, 1999, 117(4): 942-952.
- [13] Yahagi N, Shimano H, Hasty AH, et al. Absence of sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) ameliorates fatty livers but not obesity or insulin resistance in Lep(ob)/Lep(ob) mice[J]. J Biol Chem, 2002, 277(22): 19353-19357.
- [14] Wang YP, Cheng ML, Zhang BF, et al. Dietary supplementation of blueberry juice enhances hepatic expression of metallothionein and attenuates liver fibrosis in rats[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e58659.
- [15] Wang YP, Cheng ML, Zhang BF, et al. Effect of blueberry on hepatic and immunological functions in mice[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2010, 9(2): 164-168.
- [16] Wang YP, Cheng ML, Zhang BF, et al. Effects of blueberry on hepatic fibrosis and transcription factor Nrf2 in rats[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(21): 2657-2663.
- [17] 占国清, 李胜军, 周洪, 等. 硫普罗宁联合维生素 E 治疗酒精性脂肪肝疗效的临床观察[J]. 临床肝胆病杂志, 2008, 24(6): 440-442.

(责任编辑: 关蕴良)