

中图分类号: R932; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)07-0037-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.07.009



基于肌醇需求激酶 1 α / c - Jun 氨基末端激酶信号通路 探讨胆宁片干预非酒精性脂肪性肝病的作用及机制*

徐美玲¹, 苟小军², 曾晓丹¹, 赵紫龙¹, 郑姣妮^{3, Δ}

(1. 重庆市第四人民医院·重庆市急救医疗中心·重庆大学附属中心医院, 重庆 400014; 2. 上海市宝山区中西医结合医院, 上海 201999; 3. 重庆医科大学附属璧山医院·重庆市璧山区人民医院, 重庆 402760)

摘要:目的 基于肌醇需求激酶 1 α / c - Jun 氨基末端激酶(IRE1 α / JNK)信号通路, 探讨胆宁片对非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)模型大鼠的作用及机制。方法 将 32 只 SD 大鼠随机分为正常饮食组(A 组, 等体积生理盐水, 8 只)和高脂饮食组(24 只); 高脂饮食组大鼠喂养 10 周复制 NAFLD 模型成功后, 再随机分为模型组(B 组, 等体积生理盐水)、多烯磷脂酰胆碱组[C 组, 142.5 mg / (kg·d)]和胆宁片组[D 组, 562.5 mg / (kg·d)], 各 8 只。各组小鼠均灌胃相应药物干预 6 周。测定大鼠的体质量、血糖(GLU); 采用苏木精 - 伊红染色(HE)法观察大鼠肝组织病理形态变化, 采用油红染色法观察肝组织脂质沉积; 检测血清胰岛素(INS)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL - C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL - C)、游离脂肪酸(NEFA)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)水平; 采用免疫印迹(Western blot)法检测肝组织 IRE1 α 、JNK1、磷酸化胰岛素受体底物 1(p - IRS1)的蛋白表达水平。结果 与 B 组比较, D 组大鼠血糖和 TC, TG, LDL - C, NEFA, ALT, AST 水平均显著降低($P < 0.01$), 血清 INS 和 HDL - C 水平显著升高($P < 0.01$); 脂肪变性程度及细胞肿胀明显减轻, 脂滴空泡体积缩小, 数量减少; 肝脏 IRE1 α , JNK1, p - IRS1 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.01$)。结论 胆宁片可能通过下调 IRE1 α / JNK 信号通路, 减轻肝脏脂肪变性, 从而改善 NAFLD。

关键词:胆宁片; 非酒精性脂肪性肝病; 肌醇需求激酶 1 α / c - Jun 氨基末端激酶信号通路

Effect and Mechanism of Danning Tablets in the Intervention of Non - Alcoholic Fatty Liver Disease Based on IRE1 α / JNK Signaling Pathway

XU Meiling¹, GOU Xiaojun², ZENG Xiaodan¹, ZHAO Zilong¹, ZHENG Jiaoni³

(1. The Fourth People's Hospital of Chongqing · Chongqing Emergency Medical Center · Central Hospital of Chongqing University, Chongqing, China 400014; 2. Baoshan District Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Shanghai, Shanghai, China 201999; 3. Bishan Hospital of Chongqing Medical University · Bishan Hospital of Chongqing, Chongqing, China 402760)

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of Danning Tablets on non - alcoholic fatty liver disease (NAFLD) model rats based on inositol requiring enzyme 1 α / c - Jun N - terminal kinase (IRE1 α / JNK) signaling pathway. **Methods** A total of 32 SD rats were randomly divided into the normal diet group (group A, equal volume of normal saline, $n = 8$) and the high - fat diet group ($n = 24$). The rats in the high - fat diet group were fed for 10 weeks to replicate the NAFLD model, and they were randomly divided into the model group (group B, equal volume of normal saline), polyene phosphatidylcholine group [group C, 142.5 mg / (kg · d)] group and Danning Tablets group [group D, 562.5 mg / (kg · d)], eight mice in each group. Mice in each group were orally administered with corresponding drugs for six weeks. The body weight and blood glucose of rats were determined. The pathological morphological changes and lipid deposition in liver tissue were observed by hematoxylin - eosin (HE) staining and oil red staining respectively. The levels of serum insulin (INS), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low - density lipoprotein cholesterol (LDL - C), high - density lipoprotein cholesterol (HDL - C), free fatty acids (NEFA), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) were detected. The expression levels of IRE1 α , JNK1 and phosphorylated insulin receptor substrate 1 (p - IRS1) protein were detected by Western blot. **Results** Compared with those in group B, the levels of blood glucose, TC, TG, LDL - C, NEFA, ALT, and AST in group D were significantly lower ($P < 0.01$), while the levels of serum INS and HDL - C in group D were significantly higher ($P < 0.01$); the degree of fat degeneration and cell swelling of rats in group D significantly reduced, and the volume and number of lipid droplet vacuoles in group D decreased; the expression levels of IRE1 α , JNK1 and p - IRS1 protein significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** Danning Tablets may alleviate hepatic steatosis and improve NAFLD by down - regulating the IRE1 α / JNK signaling pathway.

Key words: Danning Tablets; non - alcoholic fatty liver disease; IRE1 α / JNK signaling pathway

*基金项目: 重庆市渝中区科学技术局项目 [20210175]; 重庆市璧山区科学技术局项目 [BSKJ2023032]。

第一作者: 徐美玲, 女, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为医院药学与临床药学, (电子信箱)539858387@qq.com。

Δ 通信作者: 郑姣妮, 女, 硕士研究生, 主任药师, 研究方向为临床药理学, (电子信箱)nimi842@163.com。

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是一种与胰岛素抵抗(IR)和遗传易感性密切相关的代谢应激性肝脏损害^[1],其基本病理生物学为氧化应激和脂质过氧化,氧化应激为良性过程,而脂质过氧化倾向于发展为晚期纤维化甚至肝硬化^[2]。NAFLD发病机制复杂,目前缺乏特效治疗药物。因此,早期干预和治疗十分重要。内质网应激(ERS)在NAFLD的发生、发展、转归过程中十分关键^[3],且肌醇需求激酶 $1\alpha/c-Jun$ 氨基末端激酶(IRE1 α /JNK)介导的ERS信号通路参与了NAFLD的发病及进展^[4],而JNK通路的激活可引起胰岛素受体底物1(IRS1)丝氨酸307位点(Ser307)发生磷酸化,阻碍胰岛素信号传导,抑制外周组织的胰岛素生物学效应,形成IR^[5],IR又可导致NAFLD。激活的JNK可活化其下游靶标IRS1在307位点的丝氨酸,以减弱胰岛素的敏感性^[6]。胆宁片具有抗炎和抗结石作用,且可改善肝脏的脂肪变性,从而保护肝脏和胆囊免受伤害,已被广泛应用于慢性胆囊炎、胆固醇结石等胆道疾病的治疗,且其治疗NAFLD的疗效确切,能更好地改善肝功能,缓解临床症状,无严重不良反应^[2],但其作用机制尚不明确。因此,本研究中探讨了胆宁片基于IRE1 α /JNK信号通路干预NAFLD的作用及机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:BX53型生物显微镜(奥林巴斯北京销售服务有限公司);RM 2016轮转式切片机,819型切片刀,均购自上海徕卡仪器有限公司;JT-12J型电脑生物组织脱水机,JK-6型生物组织摊烤片机,JB-P5型包埋机,均购自武汉俊杰电子有限公司;DYCZ-24DN型垂直电泳槽,DYCZ-40型电泳仪,均购自北京六一仪器厂;TS-1型水平摇床(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司);T8-1型磁力搅拌器(江苏省常州市金坛区中大仪器厂); $m\mu$ ISKANMK3型酶标仪(Thermo Fisher公司);X光胶片(锐珂<厦门>医疗器材有限公司,批号为6535876);HI650型离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

试剂:胆宁片(上海和黄药业有限公司,国药准字Z10910040,批号为051003,规格为每片0.36g);多烯磷脂酰胆碱胶囊(赛诺菲安万特<北京>制药有限公司,国药准字H20059010,批号为DBJD042,规格为每粒228mg);苯甲基磺酰氟(PMSF,上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号为P408676);四甲基乙二胺(TEMED,国药集团化学试剂有限公司,批号为80125336);电化学发光(ECL)底物液(北京普利莱基因技术有限公司,批号为P1050);兔多抗IRE1 α (批号为A17940),兔多抗磷酸化IRS1(p-IRS1,批号为AP0552),均购自爱博泰克生

物科技有限公司;兔多抗JNK1(批号为66210-1-Ig),辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗小鼠二抗(批号为RGAM001),均购自武汉三鹰生物技术有限公司;放射免疫沉淀试验(RIPA)裂解液(批号为P0013B),磷酸酶抑制剂(批号为P1045-2),二辛可酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒(批号为P0012),HRP标记羊抗兔二抗(批号为A0208),均购自碧云天生物技术有限公司。

动物:6周龄SD大鼠32只,SPF级,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物许可证号为SCXK(沪)2017-0005,动物合格证号为20170005068918。饲养于上海中医药大学实验动物中心SPF级动物房,自由饮水,控制温度为20~26℃,相对湿度为30%~70%,每小时至少换气8次,12h/12h明暗交替。

1.2 方法

分组、造模与给药:将32只SD大鼠在SPF级动物房饲养,给予普通饲料喂养1周,随机分为正常组(A组,8只)和高脂肪饲料组(24只)。A组大鼠以正常饲料喂养,高脂肪饲料组大鼠以高脂肪饲料(质量比为基础鼠粮40%、猪油30%、酪蛋白22.3%、胆固醇1%、维生素1%、矿物质3.5%、纤维素2%、氯化钠0.2%)喂养10周造模。将造模成功的大鼠随机分为模型组(B组)、多烯磷脂酰胆碱组(C组)、胆宁片组(D组),各8只。C组和D组大鼠按0.5mL/100g体质量分别灌胃142.5mg/(kg·d)多烯磷脂酰胆碱溶液和562.5mg/(kg·d)胆宁片溶液。药物溶液每周配制1次,于2~8℃冰箱保存,分装至50mL离心管,给药前充分混匀。A组和B组大鼠予相应剂量的灭菌生理盐水。

血清生化指标检测及肝组织病理形态观察:给药6周后,大鼠先禁食12h,检测空腹血糖;腹腔注射40mg/kg 1%戊巴比妥,麻醉大鼠,心脏取血,4℃静置30min后,离心收集上清液,-80℃低温保存。采集肝组织,用生理盐水漂洗,去除血渍和污物,并剔除结缔组织、脂肪组织等非研究所需组织类型,吸干,分为2份。其中1份放入10%中性福尔马林缓冲液中固定,另1份放入EP管中,液氮速冻后封口,-80℃低温保存。观察大鼠的体质量和血糖。按相关试剂盒说明书检测血清胰岛素(INS)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、游离脂肪酸(NEFA)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)水平。采用苏木精-伊红(HE)染色法观察大鼠肝组织的病理形态变化,采用油红染色法观察肝组织的脂质沉积。

免疫印迹(Western blot)法检测IRE1 α ,JNK1,p-IRS1蛋白表达水平:采用RIPA裂解液提取肝脏组织蛋白,采用BCA法测定总蛋白浓度。100℃温度下煮沸,制备

变性蛋白样品。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,采用湿法将蛋白条带转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,用5%牛血清白蛋白(BSA)或脱脂奶粉的三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液(TBST)封闭2 h,一抗(β -actin 1:5 000、IRE1 α 1:1 000、p-IRS1 1:1 000、JNK1 1:5 000)4 °C孵育过夜。洗去多余一抗,采用TBST稀释相应的HRP标记二抗1:600稀释,使PVDF膜浸泡于二抗孵育液中,室温孵育2 h,洗膜后加入发光液,压片,曝光,显影。

1.3 统计学处理

采用SPSS 21.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,行*t*检验;组间比较采用单因素方差分析,行LSD法检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体质量、血糖和血清INS

与A组比较,B组大鼠血糖均显著升高($P < 0.01$),胰岛素分泌显著减少($P < 0.01$);与B组比较,C组和D组大鼠血糖显著降低($P < 0.05$),血清INS显著升高($P < 0.01$)。详见表1。

表1 胆宁片对NAFLD模型大鼠体质量、血糖和胰岛素的影响($\bar{X} \pm s, n = 8$)

Tab.1 Effect of Danning Tablets on body weight, blood glucose and insulin of NAFLD model rats ($\bar{X} \pm s, n = 8$)

组别	体质量(g)	血糖(mmol/L)	INS(mU/L)
A组	612.36 ± 33.92	6.80 ± 0.33	37.92 ± 2.54
B组	656.58 ± 57.93	7.84 ± 0.78*	26.58 ± 3.77*
C组	676.22 ± 52.05	7.19 ± 0.30#	36.59 ± 3.68 Δ
D组	652.81 ± 51.70	6.73 ± 0.87 Δ	41.17 ± 2.93 Δ

注:与A组比较,* $P < 0.01$;与B组比较,# $P < 0.05$, $\Delta P < 0.01$ 。表2、表3和图3同。

Note: Compared with those in group A, * $P < 0.01$; Compared with those in group B, # $P < 0.05$, $\Delta P < 0.01$ (for Tab. 1 - 3 and Fig. 3).

2.2 血清生化指标

与A组比较,B组大鼠血清TC, TG, LDL-C, NEFA, ALT, AST水平均显著升高($P < 0.01$), HDL-C水平显著降低($P < 0.01$);与B组比较,C组和D组大鼠血清TC, NEFA, ALT, AST水平均显著降低($P < 0.05$), HDL-C水平均显著升高($P < 0.05$)。详见表2。

表2 胆宁片对NAFLD模型大鼠血清生化指标的影响($\bar{X} \pm s, U/L, n = 8$)

Tab.2 Effect of Danning Tablets on serum biochemical indicators of NAFLD model rats ($\bar{X} \pm s, U/L, n = 8$)

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C	NEFA	ALT	AST
A组	1.94 ± 0.30	1.72 ± 0.18	1.39 ± 0.11	0.75 ± 0.25	0.40 ± 0.09	4.72 ± 0.96	7.18 ± 0.79
B组	4.02 ± 0.55*	2.61 ± 0.53*	0.85 ± 0.18*	1.23 ± 0.29*	0.70 ± 0.12*	6.90 ± 0.98*	10.39 ± 1.10*
C组	3.55 ± 0.49#	2.60 ± 0.80	1.08 ± 0.19#	1.06 ± 0.13	0.57 ± 0.14#	6.06 ± 0.47#	9.28 ± 0.80#
D组	2.69 ± 0.28 Δ	1.58 ± 0.29 Δ	1.30 ± 0.16 Δ	0.80 ± 0.18 Δ	0.54 ± 0.05 Δ	4.43 ± 0.71 Δ	7.82 ± 0.73 Δ

2.3 肝脏组织形态及病理变化

喂养10周时,A组大鼠肝细胞形态规则,大小均匀,无肿胀和脂肪样变,肝索排列整齐;B组大鼠肝索排列紊乱,肝脏出现脂肪样变,部分肝细胞肿胀,肝细胞的细胞质内可见脂滴空泡。详见图1。喂养16周时,与B组大鼠比较,D组大鼠较B组脂肪变性程度及细胞肿胀明显减轻,脂滴空泡体积缩小,数量减少。详见图2。

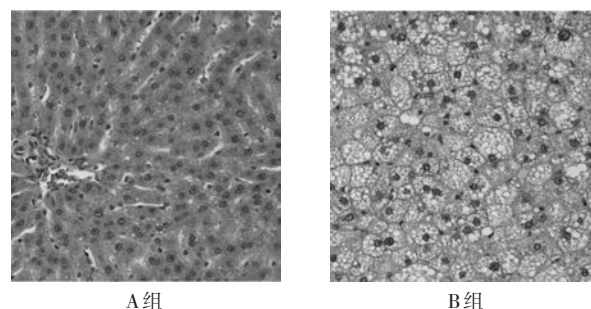


图1 A组和B组大鼠喂养10周时的肝脏组织病理学苏木精-伊红染色图($\times 200, n = 8$)

Fig.1 HE staining of liver histopathology of rats in group A and group B after feeding for 10 weeks ($\times 200, n = 8$)

2.4 肝脏组织IRE1 α , JNK1, p-IRS1蛋白表达水平

与A组比较,B组大鼠肝脏组织的IRE1 α , JNK1, p-IRS1表达水平均显著升高($P < 0.01$);与B组比较,C组和D组大鼠肝脏组织的IRE1 α , JNK1, p-IRS1表达水平均显著降低($P < 0.01$)。详见表3和图3。

表3 各组大鼠肝脏组织IRE1 α , JNK1, p-IRS1蛋白表达水平比较($\bar{X} \pm s, n = 8$)

Tab.3 Comparison of IRE1 α , JNK1, and p-IRS1 protein expression levels in liver tissues of rats in each group ($\bar{X} \pm s, n = 8$)

组别	IRE1 α	JNK1	p-IRS1
A组	0.321 ± 0.038	0.174 ± 0.008	0.238 ± 0.030
B组	0.730 ± 0.031*	0.561 ± 0.008*	0.724 ± 0.041*
C组	0.538 ± 0.023 Δ	0.311 ± 0.012 Δ	0.464 ± 0.005 Δ
D组	0.542 ± 0.009 Δ	0.325 ± 0.022 Δ	0.468 ± 0.021 Δ

3 讨论

NAFLD全球患病率为6%~35%^[7],约50%的患者经过4~13年后可发展为非酒精性脂肪性肝炎,40%的发展为肝纤维化^[8-9]。预计2030年我国NAFLD患者会超过3 100万,将成为世界上患病人数最多、增长速度最快的国家^[10-11]。临床主要采用调脂和保肝治疗,有

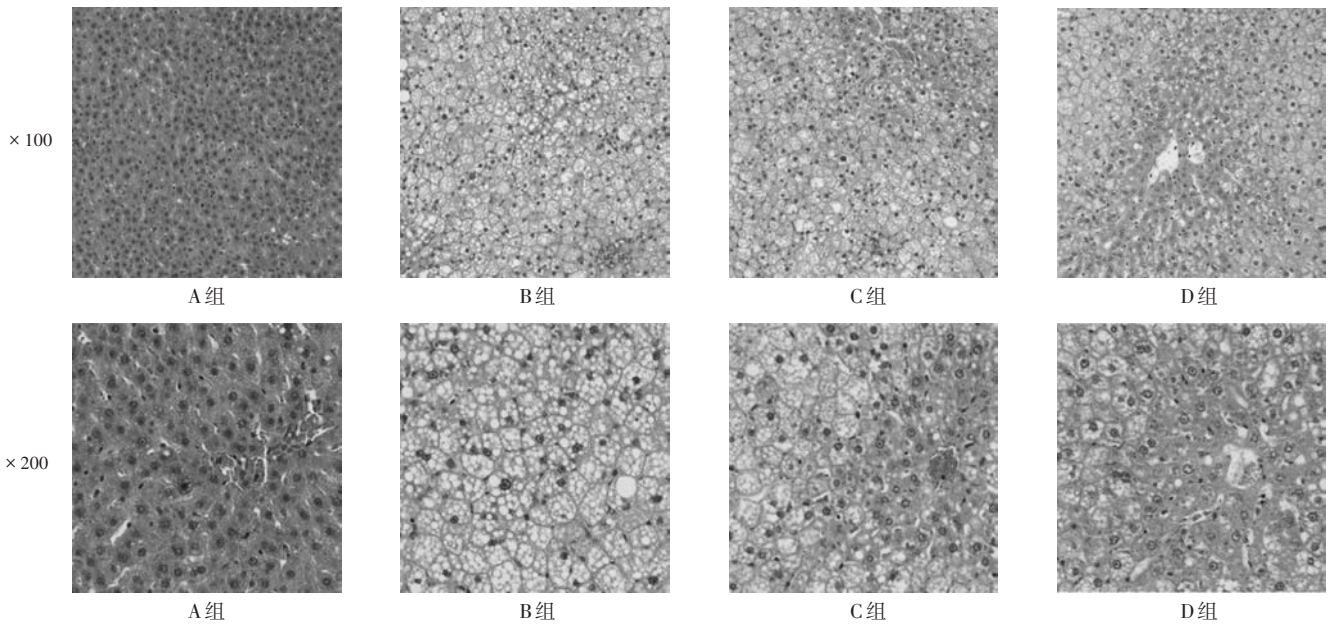


图2 各组大鼠喂养16周时的肝脏组织病理学苏木精-伊红染色图(n=8)

Fig. 2 HE staining of liver histopathology of rats in each group after feeding for 16 weeks (n = 8)

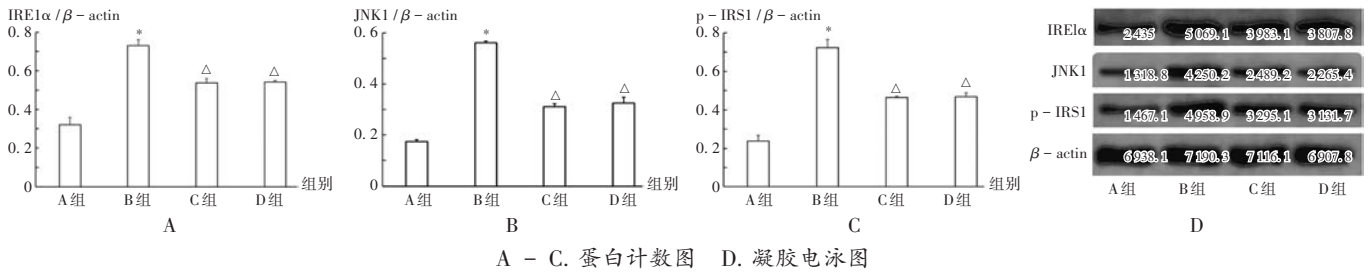


图3 各组大鼠肝脏组织IRE1 α , JNK1, p-IRS1蛋白表达水平比较(n=8)

A - C. Protein count D. Gel electrophoregram

Fig. 3 Comparison of IRE1 α , JNK1, and p-IRS1 protein expression levels in liver tissues of rats in each group (n = 8)

一定疗效,但胃肠道反应严重,导致患者依从性较差。西医治疗NAFLD以合理饮食、控制体质量、适当运动为主,但易反复;且部分患者合并有高脂血症,单纯控制体质量无效,加用他汀类调脂药物又易引起新的肝功能损伤^[12-13]。

复方中药制剂成分众多,具有多成分、多靶点、多途径的独特优势^[14]。中药方剂由不同药材组方,有助于治疗发病机制复杂的NAFLD,且中药治疗NAFLD具有不良反应少、前景广阔的特点^[15-16]。胆宁片由大黄、虎杖、青皮、白茅根、陈皮、郁金、山楂组方,具有清热化湿、疏肝利胆的作用,用于治疗急慢性胆囊炎、胆道感染、胆结石等。王卓媛等^[2]的研究结果显示,与单用西药相比,胆宁片联合西药治疗NAFLD的疗效更佳,可明显降低ALT, AST, TG, TC水平。本研究结果显示,与B组比较, D组大鼠的脂肪变性程度及细胞肿胀明显减轻,脂滴空泡体积缩小,数量减少,提示给予胆宁片后,经高脂饮食喂养的NAFLD模型大鼠的血糖、血脂水平均显著下降,胆宁片对大鼠的肝脏功能、肝细胞脂肪变性

均有防护作用。

NAFLD确切的发病机制尚未完全阐明^[17],普遍认可的NAFLD发病机制为“二次打击学说”,主要包括以IR为主的“一次打击”和以氧化应激、肝细胞大量炎性坏死和纤维化为主的“二次打击”。冯雯敏等^[15]研究发现,NAFLD的发生受ERS、肠道菌群紊乱、环境因素、遗传易感性等“多重打击”影响。也有研究认为,ERS信号传导与肝脏脂质代谢,炎症,胰岛素作用和凋亡密切相关^[18-19]。高脂饮食、缺氧、饥饿、氧化应激、钙离子稳态失衡、药物、自由基侵袭等多种原因可导致ERS的发生。IRE1是介导ERS信号转导的跨膜蛋白之一。IRE1 α 是IRE1的主要结构,存在于内质网膜上,具备激酶和内切酶活性。当ERS被诱发时,IRE1 α 被激活。JNK信号通路是丝裂原活化蛋白激酶家族中的重要成员,在IR中起重要作用,有JNK1, JNK2, JNK3 3种亚型,均属丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,主要存在于细胞质中^[20]。其中, JNK1亚型参与了脂肪肝的发生、发展,其水平与脂肪肝程度呈正相关。KODOMA等^[3]通过敲除小鼠的JNK1和

JNK2基因的对比实验发现,相较于JNK2基因敲除小鼠,JNK1基因敲除小鼠的肝脏脂肪病变明显改善,有效逆转了NAFLD程度。徐嘉好等^[4]研究发现,IRE1 α /JNK介导的ERS信号通路参与了NAFLD的发病及进展。SUN等^[21]研究发现,IRE1 α /JNK途径的活化是高果糖饮食小鼠肝脏中肝脏胰岛素信号转导受损的关键因素。吴鹏波等^[22]探讨了IRE1 α /JNK通路对早期NAFLD作用,发现IRE1 α /JNK通路通过调节自噬和凋亡对早期NAFLD起保护作用。IRS1是胰岛素信号转导通路中受体水平的重要信号蛋白,而JNK通路的激活可引起IRS1 Ser307位点发生磷酸化,阻碍胰岛素信号传导,抑制外周组织的胰岛素生物学效应,形成IR^[5]。本研究结果显示,B组大鼠肝脏组织的IRE1 α ,JNK1,p-IRS1蛋白表达水平均较A组显著升高($P < 0.01$),而D组大鼠肝脏组织的IRE1 α ,JNK1,p-IRS1蛋白表达水平均较B组显著降低($P < 0.01$),提示高脂饮食诱导的NAFLD可激活大鼠脂肪组织ERS信号通路,胆宁片对NAFLD模型大鼠肝脏组织ERS的激活有显著的缓解作用。

综上所述,胆宁片可能通过下调IRE1 α /JNK信号通路,减轻肝脏脂肪变性,从而改善NAFLD。

参考文献

- [1] WILLIAMS CD, STENDEL J, ASIKE MI, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study [J]. *Gastroenterology*, 2011, 140: 124.
- [2] 王卓媛,白换换,侯立新,等. 胆宁片治疗非酒精性脂肪性肝病临床疗效的系统评价[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2021, 21(4): 459-463.
- [3] KODAMA Y, BRENNER DA. C - Jnn N - terminal kinase signaling in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease: Multiple roles in multiple steps[J]. *Hepatology*, 2009, 49(1): 6-8.
- [4] 徐嘉好,敖娜,都健,等. 胰升糖素样肽1类似物对非酒精性脂肪肝大鼠IRE1 α -JNK通路的干预效应[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2015, 31(3): 272-276.
- [5] KANETO H, NAKATANI Y, KAWAMORI D, et al. Role of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and c - Jun N - terminal kinase in pancreatic beta - cell dysfunction and insulin resistance[J]. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2005, 37(8): 1595-1608.
- [6] HIRATANI K, HARUTA T, TANI A, et al. Roles of mTOR and JNK in serine phosphorylation, translocation and degradation of IRS - 1 [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2005, 335(3): 836-842.
- [7] VERNON G, BARANOVA A, YOUNOSSI ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non - alcoholic fatty liver disease and non - alcoholic steatohepatitis in adults[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011, 34: 274.
- [8] EKSTEDT M, FRANZEN LE, MATHIESEN UL, et al. Long - term follow - up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes[J]. *Hepatology*, 2006, 44(4): 865-873.
- [9] HASHIMOTO E, TOKUSHIGE K. Prevalence, gender, ethnic variations, and prognosis of NASH [J]. *Journal of Gastroenterology*, 2011, 46(1): 63-69.
- [10] WANG FS, FAN JG, ZHANG Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China [J]. *Hepatology*, 2014, 60(6): 2099-2108.
- [11] ESTES C, ANSTEE QM, ARIAS - LOSTE MT, et al. Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016 - 2030 [J]. *Journal of Hepatology*, 2018, 69(4): 896-904.
- [12] CALZADILLABERTOT L, ADAMS LA. The natural course of non - alcoholic fatty liver disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(5): E774.
- [13] JOHNSON NA, KEATING SE, GEORGE J. Exercise and the liver: implications for therapy in fatty liver disorders [J]. *Semin Liver Dis*, 2012, 32(1): 65-79.
- [14] 中华中医药学会脾胃病分会. 非酒精性脂肪性肝病中医诊疗指南(基层医生版)[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2019, 29(5): 483-486.
- [15] 冯雯敏,苏安宇,黄小玲,等. 古方黄芪散调控AMPK/mTOR自噬信号通路改善肝脏脂肪变性的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(10): 21-30.
- [16] 黄鸿娜,符燕青,黄晶晶,等. 非酒精性脂肪肝中医药治疗进展[J]. *辽宁中医杂志*, 2020, 47(11): 201-203.
- [17] 田卫东. Wnt/ β -Catenin信号通路在非酒精性脂肪肝病中的作用及阿托伐他汀的干预效果[J]. *中国药业*, 2016, 25(4): 51-54.
- [18] ZHANG K, WANG S, MALHOTRA J, et al. The unfolded protein response transducer IRE1 α prevents ER stress - induced hepatic steatosis [J]. *EMBO J*, 2011, 30: 1357-1375.
- [19] YAMAMOTO K, TAKAHARA K, OYADOMARI S, et al. Induction of liver steatosis and lipid droplet formation in ATF6 α - knockout mice burdened with pharmacological endoplasmic reticulum stress [J]. *Mol Biol Cell*, 2010, 21: 2975-2986.
- [20] GUPTA S, BARRETT T, WHITMARSH AJ, et al. Selective interaction of JNK protein kinase isoforms with transcription factors [J]. *Embo Journal*, 1996, 15(11): 2760-2770.
- [21] SUN RE, WANG H, ZENG XY, et al. IRE1 impairs insulin signaling transduction of fructose - fed mice via JNK independent of excess lipid [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2015, 1852(1): 156-165.
- [22] 吴鹏波,王希君,吴晓曼,等. IRE1 α -JNK通路对早期非酒精性脂肪性肝病作用研究[J]. *医学研究杂志*, 2020, 49(11): 74-77.

(收稿日期:2023-05-30;修回日期:2023-11-06)