

电针对非酒精性脂肪性肝病大鼠蛋白质二硫化物异构酶 A3 的影响*

张毅¹, 唐成林^{1△}, 田源¹, 袁海洲¹, 杨辉², 唐念珍¹, 高睿琦¹, 曹净¹

1. 重庆医科大学中医药学院(重庆 400016); 2. 重庆医科大学第一临床学院(重庆 400016)

【摘要】 目的 研究电针对非酒精性脂肪肝(NAFLD)大鼠内质网应激标志物蛋白质二硫化物异构酶 A3 (ERp57)的影响,探讨电针治疗 NAFLD 的作用机制。方法 将 60 只雄性 SD 大鼠随机分为普食组($n=15$)和高脂饮食组($n=45$),高脂饮食组饲以高脂饲料建立 NAFLD 动物模型,5 周后两组各取 2 只大鼠对比验证造模。造模成功后,普食组随机抽取 10 只作为正常对照组,高脂饮食组再随机分为 4 个组(每组各 10 只),其中饮食 1 组和电针 1 组继续饲以高脂饮食,饮食 2 组和电针 2 组饲以普通饮食。电针 1 组和电针 2 组毫针刺“足三里”“三阴交”“太冲”三穴,其中“足三里”“三阴交”接通电针刺激,每日 1 次,单侧交替取穴,每次治疗 20 min,连续 4 周。每周称取各组大鼠体质量,治疗结束后观察各组大鼠血脂及肝功的变化,RT-PCR 和 Western blot 检测 ERp57 的基因和蛋白表达,并检测下游分子固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c)的基因表达。结果 4 周后,饮食 1 组大鼠体质量增长低于饮食 2 组、电针 1 组和正常对照组($P<0.05$);电针 2 组大鼠体质量增长高于电针 1 组($P<0.05$),与饮食 2 组差异不明显($P>0.05$)。饮食 1 组血清血脂、肝功指标以及肝脏 ERp57 和 SREBP-1c 基因和 ERp57 蛋白的表达高于正常对照组,电针 1 组和饮食 2 组($P<0.05$);电针 2 组分别与饮食 2 组和电针 1 组比较,上述指标降低更为明显($P<0.05$)。结论 电针能有效抑制 ERp57 的表达,改善 NAFLD 大鼠肝脏内质网应激,从而降低 SREBP-1c 的表达,改善脂质代谢,这可能是电针治疗 NAFLD 的机制之一。

【关键词】 非酒精性脂肪肝 电针 内质网应激 ERp57

Effect of Electroacupunctrue on ERp57 in NAFLD Rats ZHANG Yi¹, TANG Cheng-lin^{1△}, TIAN Yuan¹, YUAN Hai-zhou¹, YANG Hui², TANG Nian-zhen¹, GAO Rui-qi¹, CAO Jing¹. 1. Chinese Medical College, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. The No. 1 Clinical College, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

△ Corresponding author, E-mail: CYTCL996@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of electroacupunctrue on ERp57 in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats, and study the therapeutic mechanism of electroacupunctrue in patients with NAFLD. **Methods** Sixty male SD rats were randomly divided into common diet group ($n=15$) and high-fat diet group ($n=45$). 5 weeks later, two rats from the two groups were executed and confirmed that the model was successful. Then 10 rats in common diet group were chosen as control group (Control), and 40 rats in high-fat diet group were randomly chosen and divided into diet group 1 (D1), diet group 2 (D2), electroacupuncture group 1 (EA1) and electroacupuncture group 2 (EA2) ($n=10$ each). D1 and EA1 were fed by high fat diet; D2 and EA2 were fed with common diet. In EA1 and EA2, filiform needle acupuncture was applied to ST36, SP6 and Liv3 and electroacupunctrue was applied to one-side of ST36, SP6 for 20 min once daily for 4 weeks. The rats in each group were weighed per-week. After the treatment the changes of blood lipid and liver functions of these rats were observed. ERp57 gene expression and protein expression were detected by RT-PCR and Western blot, and expression of ERp57 downstream SREBP-1c was detected. **Results** The body mass of D1 increased slowly and were lower than D2 and EA1 ($P<0.05$); the body weights of EA2 increased rapidly and were higher than EA1 ($P<0.05$), but without significant difference with D2 ($P>0.05$). The contents of blood lipid, liver functions and the expression of ERp57 and SREBP-1c were significantly higher than those in Control, D2 and EA1 ($P<0.05$). While compared to D2 and EA1 respectively, the index mentioned above in EA2 decreased more significantly ($P<0.05$). **Conclusion** Electroacupunctrue can decrease expression of ERp57 to improve endoplasmic reticulum stress (ERS) of rats with NAFLD and then decrease expression of SREBP-1c to regulate rat lipid, which could be one of mechanism to cure NAFLD.

【Key words】 NAFLD Electroacupunctrue ERS ERp57

* 国家自然科学基金(No. 81273870)资助

△ 通讯作者, E-mail: CYTCL996@163.com

近年来,非酒精性脂肪肝(NAFLD)的发病率在全球呈上升趋势,已发展成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病^[1]。现阶段对于 NAFLD 研究已经深入到分子生物学水平,但由于其发病机制涉及十分广泛,尚未完全清楚其发病机制。有研究发现,内质网应激(ERS)所介导的未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)与细胞内脂质代谢及细胞凋亡信号转导通路密切相关,从而参与到 NAFLD 的发生发展过程中,因此改善 ERS 可能成为治疗 NAFLD 的重要靶点^[2,3]。目前针灸治疗 NAFLD 已有许多临床报道^[4,5],而基础实验研究还主要集中在氧化应激、脂质过氧化反应以及炎症反应等方面^[6,7],从 ERS 途径着手的针灸实验鲜有报道。本课题组前期实验已经证实,电针对肥胖大鼠脂肪组织 C 反应蛋白、白介素 6、肿瘤坏死因子- α 以及巨噬细胞趋化蛋白-1 等炎症因子具有良性调节作用^[8,9];电针能调节胰岛素抵抗模型大鼠 GLUT4 和 GSK-3 β mRNA 的表达^[10];电针还可以调节 NAFLD 大鼠肝脏炎症信号通路 toll 样受体 4 (TLR4)及核因子 κ B(NF- κ B)^[11]。本实验通过观察电针对 NAFLD 大鼠 ERS 的标志物蛋白质二硫化物异构酶 A3(ERp57)及其下游分子固醇调节元件结合蛋白(SREBP-1c)的影响,探讨电针对 NAFLD 的治疗作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60 只健康清洁级 SD 大鼠,雄性,6 周龄,体重(140 \pm 20) g,由重庆医科大学动物实验中心提供,医学动物合格证号[SCXK 渝 2012-0002]。在 SPF 级动物房适应性喂养 1 周后,按随机数字表法分为普食组($n=15$)和高脂饮食组($n=45$),高脂饮食组饲以高脂饲料建立 NAFLD 动物模型,高脂饲料由重庆医科大学动物实验中心加工,配方参照王倩等的改良配方^[12]:胆固醇 2%、胆酸钠 0.5%、丙硫氧嘧啶 0.2%、蔗糖 5%、猪油 10%及普通基础饲料 82.3%。5 周后从普食组和高脂饮食组各取 2 只大鼠肝脏做组织切片,HE 染色观察肝组织病理变化;光镜下,普食组大鼠肝组织无明显改变;高脂饮食组大鼠肝组织可见明显弥漫性肝细胞大泡型脂肪变性,确定造模成功。实验过程中动物处置方法经重庆医科大学伦理委员会批准。

1.2 主要试剂和仪器

胆固醇、胆酸钠、丙硫氧嘧啶等购于索莱宝科技

有限公司,蔗糖购于成都科龙化工试剂厂,猪油及基础饲料由重庆医科大学动物实验中心提供,总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)测定试剂盒均购于南京建成生物工程研究所;ERp57 一抗购自美国 CST 公司(Cell Signaling Technology),TRNzol 总 RNA 提取试剂购于北京天根生化科技有限公司,Rever Tre Ace-a 逆转录试剂盒和 SYBRGreen 购于 TOYOBO 公司。实验大鼠固定器购于温州原上草医疗科技有限公司(专利号:2011 1 0021482.5),华佗牌无菌针灸针(0.30 mm \times 25 mm)、华佗牌电针治疗仪均购于苏州医疗用品有限公司,紫外分光光度计、全自动生化分析仪(Olympus AU2700),电泳仪(Bio-Rad),PCR system 7500(Applied Biosystems)。

1.3 干预方法

造模成功后,从普食组随机抽取 10 只作为正常对照组(control group, Control 组),从高脂造模组中抽取 40 只随机分为饮食 1 组(D1 组)、饮食 2 组(D2 组)、电针 1 组(EA1 组)和电针 2 组(EA2 组),每组各 10 只。其中饮食 1 组和电针 1 组继续饲以高脂饮食,饮食 2 组和电针 2 组饲以低脂普通饮食。电针 1 组和电针 2 组于每日 14:00 开始固定于柔软型大鼠固定器上,毫针刺单侧“足三里”“三阴交”“太冲”三穴,电针接通“足三里”“三阴交”两穴,穴位定位及进针参照李忠仁版《实验针灸学》^[13]:毫针进针足三里和三阴交 5~7 mm、太冲 1 mm。电针参数参照部婕等的研究结果^[14]:强度 3 mA、频率 4~20 Hz、波型疏密波。每日电针治疗 1 次,左右侧交替取穴,每次治疗 20 min,连续 4 周。其余非电针干预组大鼠每日以同样方法固定,以排除应激反应影响实验结果。

1.4 标本采集

治疗 4 周后,各组大鼠禁水、禁食过夜,用 10% 水合氯醛(0.3 mL/100 g)经腹腔注射麻醉后,剖开大鼠腹腔,迅速分离出肝脏,取肝右叶组织 3 块(约 0.5 cm \times 0.5 cm \times 0.3 cm)迅速放入液氮罐中,后转入-80 $^{\circ}$ C 超低温冰箱储存待测;取心脏血 3 mL,静置 20 min,3 000 r/min 离心机分离血清,取上层清液保存于 4 $^{\circ}$ C 冰箱待测。

1.5 指标检测

治疗过程中,每隔 7 d 称取各组大鼠体质量;治疗结束后,取大鼠血清检测 TC、TG、AST 及 ALT 的含量,检测方法严格按照试剂盒说明进行。

采用 Western blot 检测肝脏 ERp57 的蛋白表

达量。取肝组织样本约 40 mg,加入 0.5 mL 蛋白匀浆缓冲液,匀浆后提取总蛋白;灌制 SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,按照 300 mA、1.5 h 的条件进行转膜,转膜后 0.01 mol/L PBST 洗 5 min,免疫反应将转好的膜于室温下以 5%脱脂奶粉中封闭非特异性蛋白,室温下约 4 h;稀释一抗(1:1 000, 0.01 mol/L PBST),4 °C 过夜,用 0.01 mol/L PBST 在室温下脱色摇床上洗 3 次,每次 5 min;加入 1:1 000、用 0.01 mol/L PBST 稀释的二抗,室温下孵育 1~2 h,用 0.01 mol/L PBST 在室温下脱色摇床上洗 3 次,每次 5 min。置于化学发光试剂中增强反应 1~3 min,暗室中使 X 光片曝光,常规方法显影、定影,扫入凝胶成像系统(Bio-Rad Gel Doc 2000)进行图像分析。以 ERp57/GADPH 的灰度值比值表示各组大鼠肝脏 ERp57 的相对含量。

采用 RT-PCR 检测肝脏 ERp57 和 SREBP-1c mRNA 的表达。取肝组织样本,移入 1.5 mL EP 管中,采用 TRNzol 法提取大鼠肝组织总 RNA,总 RNA 浓度、纯度及完整性检测采用紫外分光光度计及琼脂糖凝胶电泳;严格按照 Rever Tre Ace-a 逆转录试剂盒操作步骤进行,反应条件:42 °C 10 min,30 °C 20 min→99 °C 5 min→4 °C 5 min;PCR 反应条件:94 °C 预变性 5 min→(94 °C 变性 30 s→57 °C 退火 30 s→72 °C 延伸 30 s)×30 个循环→72 °C 终末延伸 10 min;100 mL TAE 缓冲液中加入 1 g 琼脂糖,微波炉中加热溶解,溶解后冷至 60 °C,加入 5 μL EB 染料,倒入已插入梳子的制胶槽中,待其冷却凝固后待用。取 15 μL PCR 产物加入上样孔中,5 V/1 cm 电泳,凝胶成像仪成像。以

ERp57、SREBP-1c/GADPH 的灰度值比值表示各组大鼠肝脏 ERp57、SREBP-1c mRNA 的相对含量。上、下游引物序列见表 1。

表 1 基因引物序列
Table 1 Primer sequences

	Primer sequence	Product length (bp)
ERp57	F:5'-CCCAGACCAACGAAGGAC-3' R:5'-GGCCACACCAAGGAGCATAAAAC-3'	112
SREBP-1c	F:5'-CCCCAGTACCCTTGAGGACCTT-3' R:5'-CGGGGTGAGAGCCTTGAGACAG-3'	213
GADPH	F:5'-TGGGGCCAAAAGGGTCATCATC-3' R:5'-AGGGCCTCTCTCTTGTCTCAG-3'	721

1.6 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 分析。组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),多组间均数的两两比较以 Duncan 多重检验进行分析(D₁ 与 EA₂ 组之间不作配对比较), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前后各组大鼠体质量变化的比较

见表 2。实验过程中,正常对照组大鼠体质量增长迅速,NAFLD 大鼠体质量增长较正常对照组大鼠明显缓慢($P < 0.05$)。经过 4 周干预后,各组大鼠体质量变化明显,其中正常对照组、饮食 2 组和电针 2 组大鼠的体质量增长迅速;饮食 1 组大鼠体质量增长缓慢,与饮食 2 组、电针 1 组大鼠差异有统计学意义($P < 0.05$);电针 2 组大鼠体质量增长明显,与电针 1 组差异有统计学意义($P < 0.05$),与饮食 2 组差异不明显($P > 0.05$),说明电针及饮食干预对 NAFLD 大鼠体质量变化均有影响,但饮食干

表 2 治疗前后各组大鼠体质量变化的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Body mass of the rats before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Before treatment (g)	After treatment (g)	Difference value (g)
Control	10	278.45±36.66	377.55±37.81	99.10±32.17
D1	10	192.11±22.40*	214.81±16.16*	22.70±13.59*
D2	10	189.15±9.98*	298.50±15.14*·#	109.35±11.58*·#
EA1	10	193.83±18.90*	239.54±24.03*·#	45.71±18.74*·#
EA2	10	190.48±15.91*	295.14±17.26*·△	104.66±18.28△

* $P < 0.05$, vs. control group; # $P < 0.05$, vs. D1 group; △ $P < 0.05$, vs. EA1 group

预效果更明显。

2.2 各组大鼠血清 TC、TG、AST、ALT 含量的比较

如表 3 所示,干预 4 周后,饮食 1 组大鼠 TC、TG、AST、ALT 水平较正常对照组升高($P < 0.05$),电针 1 组与饮食 1 组比较 TC、TG、AST、ALT 降低($P < 0.05$),说明电针治疗对 NAFLD 大鼠血脂及肝功有良性调节作用;饮食 2 组与饮食 1

组相比较 TC、TG、ALT 降低($P < 0.05$),但 AST 降低不明显($P > 0.05$),说明单纯的饮食调控可以适当调节大鼠血脂,但对肝功的改善效果不是十分显著;电针 2 组分别与饮食 2 组和电针 1 组相比较 TC、TG、AST、ALT 均降低($P < 0.05$),说明电针治疗过程中结合饮食调控可以加强其调控作用。

2.3 各组大鼠肝组织 ERp57 的蛋白表达比较

表 3 各组大鼠血脂及肝功能指标比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of the lipids and the function of liver in rat among the 5 groups ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)
Control	10	1.96±0.12	0.99±0.15	91.61±13.92	45.97±14.80
D1	10	10.08±0.39*	2.13±0.19*	189.39±15.48*	128.20±19.95*
D2	10	7.71±0.42*·#	1.58±0.14*·#	180.98±17.20*	115.86±9.79*·#
EA1	10	7.98±0.33*·#	1.62±0.13*·#	167.29±11.86*·#	102.50±13.74*·#
EA2	10	3.23±0.54*·▲△	1.09±0.16▲△	144.26±10.47*·▲△	85.94±8.60*·▲△

* $P<0.05$, vs. control group; # $P<0.05$, vs. D1 group; ▲ $P<0.05$, vs. D2 group; △ $P<0.05$, vs. EA1 group

图 1 可见正常对照组大鼠肝组织 ERp57 较少表达,而其余 4 组表达升高,其中饮食 1 组升高最为显著($P<0.05$),说明 NAFLD 大鼠肝脏出现 ERS

状态;饮食 2 组和电针 1 组分别与饮食 1 组比较, ERp57 的表达均下调($P<0.05$),说明单纯的电针干预或饮食调控对 ERS 状态有一定的调节作用;分别与饮食 2 组和电针 1 组比较,电针 2 组 ERp57 的表达进一步降低($P<0.05$),说明电针调节 ERS 过程中联合饮食调控能起到更好的调节作用。

2.4 各组大鼠肝组织 ERp57 和 SREBP-1c mRNA 表达的比较

结果(图 2)显示:饮食 1 组大鼠肝脏 ERp57 和 SREBP-1c mRNA 表达较正常对照组升高($P<0.05$);电针 1 组较饮食 1 组降低($P<0.05$),说明电针对二者的 mRNA 表达有一定的抑制作用;饮食 2 组与饮食 1 组比较,二者的 mRNA 表达同样下调($P<0.05$),说明饮食调控也具有一定的良性调节作用;电针 2 组分别与饮食 2 组和电针 1 组比较下调更明显($P<0.05$),说明电针与饮食调控结合效果更优。

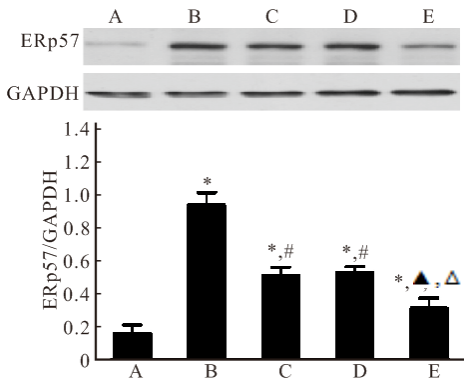


图 1 各组大鼠肝脏 ERp57 蛋白的表达

Fig 1 Protein expression of ERp57 in rat liver tissues

A: Control group; B: D1 group; C: D2 group; D: EA1 group; E: EA2 group. * $P<0.05$, vs. control group; # $P<0.05$, vs. D1 group; ▲ $P<0.05$, vs. D2 group; △ $P<0.05$, vs. EA1 group

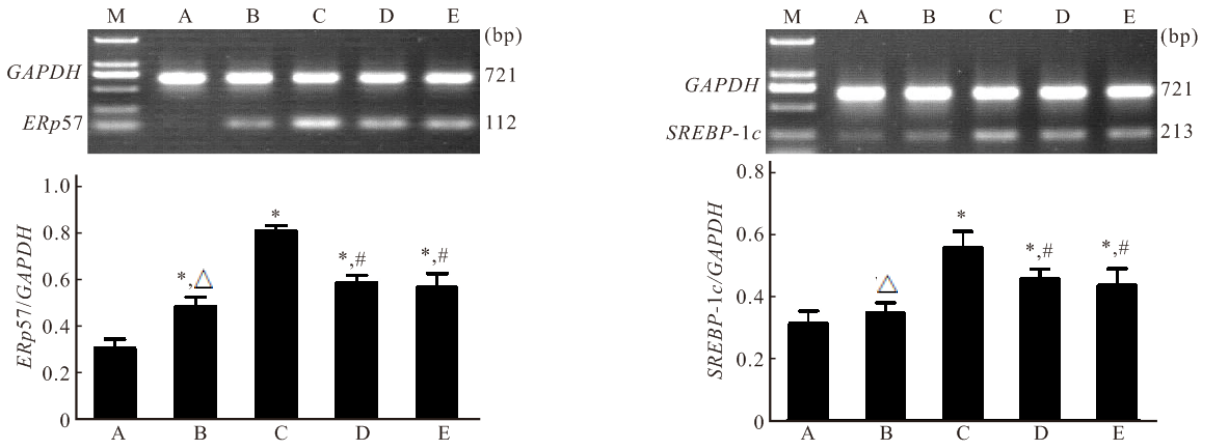


图 2 大鼠肝脏 ERp57 和 SREBP-1c mRNA 的表达

Fig 2 mRNA expression of ERp57 and SREBP-1c in rat liver tissues

A: Control group; B: EA2 group; C: D1 group; D: D2 group; E: EA1 group. * $P<0.05$, vs. control group; # $P<0.05$, vs. D1 group; △ $P<0.05$, vs. D2 and EA1 groups

3 讨论

内质网是细胞内合成蛋白质、脂类和糖类的重要场所,同时也是细胞内钙离子的储存场所,其功

能涉及到物质的运输与交换、解毒等方面。同时,内质网也参与了脂肪酸代谢和类固醇激素的合成。多种因素如氧化应激、卵磷脂合成障碍、钙代谢紊乱等可导致内质网功能失衡,从而引起 ERS。ERS 本质

上是一种重要的细胞自我防御机制,目的是维持内质网内环境的稳定以保证其正常的生理功能^[15]。ERS发生后首先会启动UPR,发挥其自我保护的作用,但是过于持久且强烈的ERS则会引起UPR失代偿,引起细胞不可逆的损伤甚至凋亡^[16]。肝脏细胞中有大量的内质网分布,许多肝脏疾病都会有ERS的参与,而且国内外相关研究已发现ERS与NAFLD发病机制密切相关^[17],ERS诱导NAFLD也已经进一步被实验证实^[18]。

ERp57主要分布在内质网上,是ERS发生时诱导产生的靶分子蛋白。有研究发现在脂肪肝细胞和脂肪肝患者的组织样品中ERp57蛋白表达明显上调,其表达提示ERS的发生,因此可以作为ERS的标志蛋白^[19]。SREBPs是一种膜连接蛋白,分布于内质网上。SREBP-1c是其中一个亚型,与脂代谢密切相关,是参与脂肪合成基因的主要转录调节因子。ERS发生时,SREBP-1c被激活后进入细胞核内,在转录水平上调控多种与脂肪酸及甘油三酯合成相关的重要酶,从而促进肝脏脂肪酸的合成和积聚^[20]。实验研究已经证实,肝脏中过度表达的SREBP-1c可以导致肝细胞发生脂肪变性^[21]。

中医认为,非酒精性脂肪性肝病的病因主要是饮食、情志以及久病等,引起肝失疏泄、脾失健运、肾精亏损,而致肝、脾、肾三脏失调,湿热痰瘀互结于肝所致,故治疗当以平肝疏肝、调理脾胃为主^[22]。足三里属足阳明胃经穴,功善调理脾胃、通经活络,并有补虚强壮之功;三阴交属足太阴脾经穴,功能调脾胃、益肝肾,脾胃位于中焦,为气机升降的枢纽,临床中常与足三里配合使用对高脂血症起良性调节作用^[23];太冲为足厥阴肝经的输、原穴,具有平肝疏肝、清利下焦等作用,肝系病症常选太冲穴作为主穴;同时电针波形中疏密波具有疏通气血、调整阴阳的功效。

电针在调节脂质代谢方面有着十分显著的效果,课题组近期实验发现,电针可以有效调控NAFLD大鼠肝脏脂肪酸代谢相关因子PPAR- α 和L-FABP表达。因此,本实验以高脂饮食饲养建立NAFLD大鼠模型,通过电针刺激特定穴位,以ERA标志分子ERp57及其下游分子SREBP-1c的蛋白和(或)基因表达为检测指标,同时根据大鼠的饮食不同分为饮食1组、饮食2组、电针1组及电针2组,以排除饮食因素对实验的影响,来探讨电针治疗NAFLD的作用机制。实验结果发现:造模组大鼠与正常组相比较精神状态较差,皮毛凌乱,体质量

增长缓慢,本实验造模方法所建立的NAFLD大鼠出现内脏脂质沉积,而没有出现肥胖或者其他表型,说明NAFLD的发生与肥胖并无绝对联系,推测可能是造模方法的差异,而经过电针和(或)低脂饮食干预后造模的4组大鼠体质量增长有所加快,但低脂饮食干预的2组大鼠体质量增长明显快于其余2组。而各组大鼠血脂及肝功以及ERp57和SREBP-1c的基因和(或)蛋白表达在干预后也有一定改善,电针治疗的同时配合低脂饮食干预的效果要明显优于单纯的电针干预。

由此可以推测,电针治疗NAFLD的作用机制可能是通过抑制ERS标志分子ERp57的表达,改善ERS状态,进而调控其下游分子SREBP-1c的表达,从转录水平调节与脂质代谢相关的关键酶,减轻肝脏脂质的合成与积聚。同时,饮食因素对实验结果也有一定影响,通过饮食方法建立动物模型的实验研究应该引起重视。

参 考 文 献

- 1 Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013; 10(11): 686-690.
- 2 刘江, 李伟平, 施杰明等. 内质网应激参与细胞脂肪变性的研究. *医学研究杂志*, 2012; 41(12): 122-125.
- 3 陈潇迪, 王军, 熊吉等. 内质网应激介导的凋亡途径在大鼠酒精性脂肪性肝病中的变化及意义. *胃肠病学和肝病杂志*, 2013; 22(3): 215-218.
- 4 李跃文. 健脾疏肝活血饮佐治非酒精性脂肪性肝病44例. *浙江中西医结合杂志*, 2014; 24(11): 974-975.
- 5 李立, 苏冬梅, 韩海啸等. 中医药治疗非酒精性脂肪性肝炎临床研究的系统评价. *中国循证医学杂志*, 2011; 11(2): 195-203.
- 6 冯雯琪, 刘群英, 曾志华等. 电针对非酒精性脂肪肝大鼠肝细胞色素P4501A1和脂质过氧化的影响. *针刺研究*, 2009; 34(2): 89-93.
- 7 陈晓琳, 唐成林, 谢辉等. 电针对非酒精性脂肪肝大鼠脂代谢和炎症因子的干预效应. *重庆医科大学学报*, 2014; 39(8): 1119-1124.
- 8 刘祖丽, 唐成林, 余敏等. 电针刺激对肥胖大鼠脂肪组织C反应蛋白、白细胞介素-6表达的影响. *重庆医科大学学报*, 2011; 36(4): 429-432.
- 9 余敏, 肖晓秋, 唐成林等. 不同强度电针对肥胖大鼠血脂、脂肪组织巨噬细胞趋化蛋白-1及肿瘤坏死因子- α 的影响. *针刺研究*, 2011; 36(2): 79-84.
- 10 唐念珍, 唐成林, 杨辉等. 电针对胰岛素抵抗模型大鼠GLUT4和GSK-3 β mRNA表达的影响. *中国组织化学与细胞化学*, 2014; 23(5): 394-400.
- 11 陈晓琳, 唐成林, 谢辉等. 电针对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝TLR4、NF- κ B表达的影响. *南方医科大学学报*, 2014; 34(11): 1584-1588.

- 12 王倩,管小琴.大鼠非酒精性脂肪肝造模方法的改进.世界华人消化杂志,2007;15(11):1219-1224
- 13 李忠仁.实验针灸学.北京:中国中医药出版社,2007:255-257.
- 14 郝婕,唐成林,刘仁健等.不同强度电针对肥胖大鼠附睾脂肪细胞内质网应激的影响.中国病理生理杂志,2013;29(2):354-357.
- 15 Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007;8(7):519-529.
- 16 Zhang Y, Venugopal SK, He S, *et al.* Ethanol induces apoptosis in hepatocytes by a pathway involving novel protein kinase C isoforms. Cell Signal, 2007;19(11):2339-2350.
- 17 Liu J, Jin X, Yu CH, *et al.* Endoplasmic reticulum stress involved in the course of lipogenesis in fatty acids-induced hepatic steatosis. J Gastroenterol Hepatol, 2010;25(3):613-618.
- 18 Leamy AK, Egnatchik RA, Young JD. Molecular mechanisms and the role of saturated fatty acids in the progression of non-alcoholic fatty liver disease. Prog Lipid Res, 2013;52(1):165-174.
- 19 Wang H, Chan PK, Pan SY, *et al.* ERp57 is up-regulated in freefatty acids-induced steatotic L-02 cells and human nonalcoholic fatty livers. J Cell Biochem, 2010;110(6):1447-1456.
- 20 McPherson R, Gauthier A. Molecular regulation of SREBP function; the Insig-SCAP connection and isoform-specific modulation of lipid synthesis. Biochem Cell Biol, 2004;82(1):201-211.
- 21 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. Hepatol Res, 2008;38(11):1122-1129.
- 22 杨敏.非酒精性脂肪肝的中医学研究进展.中医临床研究,2012;4(3):118-120.
- 23 夏建国,储浩然.针灸治疗高脂血症研究进展.中医药临床杂志,2011;23(1):86-88.

(2015-09-20 收稿,2015-12-25 修回)

编辑 汤洁

(上接第 207 页)

- 17 陈文,顾红卫,马维平等.针刺足三里、悬钟对缺血性中风患者脑血管功能的影响.多中心随机对照研究.中国针灸,2006;6(1):851-853.
- 18 廖少钦,江征,卓丽萍等.针刺“曲池”“外关”穴位促进脑卒中手功能恢复临床研究.亚太传统医药,2014;10(22):60-62.
- 19 方宗畴.实验大鼠针灸穴位图谱及针刺手法.南京铁道医学院学报,1993;12(1):19-21.
- 20 Schwab ME. Repairing the injured spinal cord. Science, 2002;295(5557):1029-1031.
- 21 Marillat V, Cases O, Nguyen-Ba-Charvet KT, *et al.* Spatiotemporal expression patterns of slit and robo genes in the rat brain. J Comp Neurol, 2002;442(2):110-155.
- 22 Seeger M, Tear G, Ferres-Marco D, *et al.* Mutations affecting growth cone guidance in Drosophila: genes necessary for guidance toward or away from the midline. Neuron, 1993;10(3):409-426.
- 23 Kaneko S, Iwanami A, Nakamura M, *et al.* A selective Sema1A inhibitor enhances regenerative responses and functional recovery of the injured spinal cord. Nat Med, 2006;12(12):1380-1389.
- 24 Zheng B, Lee JK, Xie F. Genetic mouse models for studying inhibitors of spinal axon regeneration. Trends Neurosci, 2006;29(11):640-646.
- 25 Whitford KL, Marillat V, Stein E, *et al.* Regulation of cortical dendrite development by Slit-Robo interactions. Neuron, 2002;33(1):47-61.
- 26 Andrews W, Liapi A, Plachez C, *et al.* Robo1 regulates the development of major axon tracts and interneuron migration in the forebrain. Development, 2006;133(11):2243-2252.
- 27 Johnson KG, Tenney AP, Ghose A, *et al.* The HSPGs Syndecan and Dallylike bind the receptor phosphatase LAR and exert distinct effects on synaptic development. Neuron, 2006;49(4):517-531.
- 28 Walz A, McFarlane S, Brickman YG, *et al.* Essential role of heparan sulfates in axon navigation and targeting in the developing visual system. Development, 1997;124(12):2421-2430.
- 29 杨新颖,王丽梅,戴功等.硫酸多糖在介导胶质细胞源性神经生长因子神经营养活性中的作用.中国临床康复,2005;9(38):126-129.
- 30 朱莉,吴连俊,王彦亮.硫酸乙酰肝素蛋白聚糖在神经损伤再生反应中的作用.国际口腔医学杂志,2013;40(5):687-690.
- 31 Paveliev M, Hienola A, Jokitalo E, *et al.* Sensory neurons from N-syndecan-deficient mice are defective in survival. Neuroreport, 2008;19(14):1397-1400.

(2015-08-30 收稿,2015-12-25 修回)

编辑 沈进