

基于 Egr-1 调控 IL-8 表达研究强肝胶囊对大鼠非酒精性脂肪肝的改善作用

郝莉莉, 刘小溪

天津中医药大学第一附属医院 脾胃科, 天津 300193

摘要: **目的** 从抑制早期生长反应因子-1 (Egr-1) 介导的白细胞介素 8 (IL-8) 表达的角度探讨强肝胶囊对大鼠非酒精性脂肪肝的改善作用。 **方法** Wistar 大鼠随机分为对照组、模型组和强肝胶囊组, 每组各 10 只。模型组和强肝胶囊组喂食高脂饲料, 建立高脂血症非酒精性脂肪肝模型, 造模同时强肝胶囊组大鼠 ig 强肝胶囊内容物 0.53 mg/g, 给药体积为 1 mL/100 g 体质量, 模型组 ig 等量生理盐水。每周给药 6 d, 持续 8 周。治疗结束取动物肝脏, 氧化酶法测定肝组织中三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC) 水平; 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法检测 Egr-1 和 IL-8 mRNA 表达; Western blotting 法测定 Egr-1 蛋白表达; ELISA 法测定肝组织中 IL-8 水平。将大鼠肝脏 HepG2 细胞分别进行 0.25 mmol/L 油酸处理、转染 Egr-1 siRNAs 并油酸处理、转染 pcDNA3.1-Egr-1 阳性表达质粒并油酸处理后, RT-qPCR 法检测细胞中 Egr-1 和 IL-8 mRNA 表达, WB 法检测 Egr-1 蛋白表达, ELISA 法检测培养液上清中 IL-8 水平。 **结果** 经过 8 周治疗, 强肝胶囊组 TG 和 TC 水平明显下降 ($P < 0.01$); Egr-1 mRNA、Egr-1 蛋白表达和 IL-8 mRNA、IL-8 水平均明显下降 ($P < 0.01$)。Egr-1 siRNA#1、siRNA#2 能明显降低 Egr-1 表达水平, 采用 siRNA 干扰 Egr-1 基因, 并用油酸处理 HepG2 细胞后, 细胞内和培养液上清中 IL-8 水平较对照细胞显著降低 ($P < 0.01$)。转染 Egr-1 阳性表达质粒导致 Egr-1 表达量上升 ($P < 0.01$), IL-8 表达也同步升高 ($P < 0.01$)。 **结论** Egr-1 可正向调节 IL-8 表达。强肝胶囊通过抑制 Egr-1 介导的 IL-8 表达, 达到改善非酒精性脂肪肝的作用。

关键词: 强肝胶囊; 非酒精性脂肪肝; 早期生长反应因子-1; 白细胞介素 8; 改善作用

中图分类号: R285.6

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2018)02-0214-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.02.002

Improvement of Qianggan Capsules on non-alcoholic fatty liver in rats based on regulation of Egr-1 on IL-8 expression

HAO Li-li, LIU Xiao-xi

Department of Spleen and Stomach Diseases, First Teaching Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin, China

Abstract: **Objective** To discuss the improvement of Qianggan Capsules on non-alcoholic fatty liver in rats based on regulation of Egr-1 on IL-8 expression. **Methods** Wistar rats were randomly divided into the control, model, and Qianggan Capsules groups, and each group had 10 rats. Rats in model and Qianggan Capsules groups were fed high-fat diet to establish hyperlipidemic nonalcoholic fatty liver model. At the same time, the rats in Qianggan Capsules group were ig administered with Qianggan Capsules 0.53 mg/g, and the volume was 1 mL/100 g body weight. And rats in model group were given equivalent saline. Rats were treated 6 d weekly for 8 weeks. After treatment, liver tissues were separated. The levels of three glycerol oxidase (TG) and total cholesterol (TC) level in liver tissue were measured by oxidase method. Egr-1 and IL-8 expression of mRNA were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) method, Egr-1 protein expression was detected by Western blotting (WB) method, and IL-8 levels were detected by ELISA method. The HepG2 cells were treated with 0.25 mmol/L oleic acid, transfected with Egr-1 siRNAs and then treated with oleic acid, or transfected with pcDNA3.1-Egr-1 and then treated with oleic acid. The expression of Egr-1 and IL-8 mRNA in the cells was detected by RT-qPCR method, the expression of Egr-1 protein was detected by Western blotting method, and IL-8 level in the supernatant of the culture liquid was detected by ELISA method. **Results** After treatment for 8 weeks, the levels of TG and TC were significantly decreased in Qianggan Capsules group ($P < 0.01$), and the expression of Egr-1 mRNA and Egr-1 protein, IL-8 mRNA and IL-8 levels were significantly decreased ($P < 0.01$). Egr-1 siRNA#1 and siRNA#2 could significantly decrease the levels of Egr-1 expression. After siRNA interference with Egr-1 gene and HepG2 treated with oleic acid, IL-8 levels in cells and culture

收稿日期: 2017-08-15

基金项目: 天津市卫生和计划生育委员会中医中西医结合科研课题 (2015107)

作者简介: 郝莉莉, 女, 硕士, 研究方向为消化系统疾病。Tel: (022)27432182 E-mail: 1245200353@qq.com

supernatants were significantly lower than those in control cells ($P < 0.01$). The expression of Egr-1 was increased by transfection of Egr-1 positive expression plasmid ($P < 0.01$), and IL-8 expression also increased ($P < 0.01$). **Conclusion** Egr-1 can positively regulate the expression of IL-8. Qianggan Capsules can improve the effect of nonalcoholic fatty liver by inhibiting the expression of Egr-1 mediated IL-8.

Key words: Qianggan Capsules; nonalcoholic fatty liver; early growth response gene -1; IL-8; improvement

非酒精性脂肪肝在我国发病率约为 20%，病因复杂，是代谢综合征在肝脏的病理表现^[1]。由于该病可从单纯性脂肪肝进展为伴随气球样变性、炎症浸润和肝纤维化的非酒精性脂肪性肝炎，甚至发展为肝硬化、肝癌，因此越来越引起重视^[1]。非酒精性脂肪肝发病机制并未完全阐明，目前认为机体慢性、持续性炎症反应与其发生发展密切相关。肝损伤早期，肝枯否细胞分泌肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等炎症因子，启动肝内炎症级联反应，促进肝炎症损伤、肝纤维化的进程。早期生长反应因子 (Egr, early growth response gene) -1 为核转录因子，通过调控 TNF- α 等炎症因子转录而参与炎症反应^[2]。白细胞介素 8 (IL-8) 是炎症介质，通过趋化中性粒细胞促其释放蛋白酶，直接损伤肝细胞^[3]，与肝脏炎症活动指数呈正相关^[4]。强肝胶囊具有改善肝功能、抗肝纤维化作用，对慢性乙肝、肝硬化等慢性肝病具有一定作用^[5]，临床应用强肝胶囊治疗非酒精性脂肪肝也取得了良好的疗效，改善了患者的脂谱和肝功能^[6]。因此，本研究拟从 Egr-1 调控 IL-8 表达角度探讨强肝胶囊改善脂肪肝的作用机制。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

SpectraMax 多功能酶标仪 (美国 MD 公司)，IX71 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司)，7500 型 Real-time PCR 仪 (美国 ABI 公司)，ChemiDoc XRS 凝胶成像仪 (美国 Biorad 公司)。

人肝脏 HepG2 细胞 (货号 BNCC337684) 购自美国 ATCC 公司；RPMI 1640 培养基 (货号 8116163)、胎牛血清 (货号 7681594)、胰酶 (批号 7809364)、青链霉素双抗 (货号 1647116) 购自美国 Gibco 公司；油酸 (货号 052K1323) 购自美国 Sigma Aldrich 公司。Lipofectamine 2000 (货号 1216089)、Egr-1 siRNAs (货号 AM16708) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。总 RNA 提取试剂盒 (货号 13912F)、逆转录试剂盒 (货号 60242)、UltraSYBR Mixture (货号 40237)、化学发光检测试剂盒 (货号 40227) 购自北京康为世纪有限公司；

RIPA 细胞裂解液 (批号 11I09A02)、转膜缓冲液 (批号 11J28C52) 购自武汉博士德公司；Egr-1 (货号 L0880)、actin 抗体 (货号 B8450) 购自美国 Santa Cruz 公司；pcDNA3.1、pcDNA3.1-Egr-1 由天津天景澄生物技术公司提供；三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC) 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所 (批号 03/2016)；IL-8 试剂盒 (货号 201609015A) 购自德国 IBL 公司。强肝胶囊 (石家庄东方药业股份有限公司生产，规格 0.4 g/粒，批号 20151120)。

健康雄性 Wistar 大鼠，SPF 级，体质量 (200 $\pm$ 20) g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，动物使用合格证号 SCKX (京) 2012-0001。

1.2 动物造模和给药

大鼠经适应性喂养 1 周后，随机分为对照组、模型组和强肝胶囊组，每组各 10 只。各组大鼠均自由饮食饮水，饲养在完全相同的条件下。对照组喂食全价营养颗粒饲料，模型组、强肝胶囊组喂食高脂饲料，建立高脂血症非酒精性脂肪肝模型^[7]。造模的同时强肝胶囊组大鼠 ig 强肝胶囊内容物 0.53 mg/g (相当于成人日剂量的 10 倍)，给药体积为 1 mL/100 g 体质量；模型组 ig 等量生理盐水。各组每周给药 6 d，持续 8 周。

1.3 动物处理

治疗结束，将动物用戊巴比妥钠麻醉后处死，冰上分离肝脏，部分投入液氮，后转入 -80 °C 保存，用于 mRNA 和蛋白检测；部分冻存于 -20 °C，用于 TC、TG 水平检测。

1.4 氧化酶法检测 TG 和 TC 水平

依试剂盒说明书，取 0.1 g 肝组织，置于预冷的 0.9 mL 无水乙醇中，冰浴下制备匀浆，离心取上清，于 500 nm (TG) 或 510 nm (TC) 波长下测定吸光度 (A) 值。

1.5 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法检测 Egr-1 和 IL-8 mRNA 表达

按照 RNA 提取试剂盒提取说明，Trizol 法提取组织或细胞中总 RNA，取 2 μ g 总 RNA 为模板逆转录为 cDNA。取 5 μ L cDNA 加入到含有上下游引物、

荧光染料 SYBR green 的反应体系中,检测 Egr-1 和 IL-8 基因相对于管家基因 GAPDH 的表达情况。所有引物选自 Primer Bank 数据库。引物由上海生工合成。

Egr-1 上游引物 5'-GCAACACTTTGTGGCCTGAA-3', 下游引物 5'-GAGTTGGGACTGGTAGGTGT-3'; IL-8 上游引物 5'-CATTAATATTTAACGATGTGGATGCGTTTCA-3', 下游引物 5'-GCCTACCATCTTTAAACTGCACAAT-3'; GAPDH 上游引物 5'-GACATGCCGCCTGGAGAAAC-3'; 下游引物 5'-AGCC CAGGATGCCCTTTAGT-3'。

PCR 扩增条件为: 95 °C 预变性 10 min、95 °C 15 s、59 °C 30 s、72 °C 30 s, 40 个循环。反应结束, $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析结果, 计算 Egr-1、IL-8 mRNA 相对表达量。所有样品重复检测 3 次。

1.6 Western blotting 法测定 Egr-1 蛋白表达

常规方法提取组织或细胞中的总蛋白并定量。样品进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜、封闭后, 与 Egr-1 (1:500) 一抗杂交, 再经与 HRP 标记的二抗 (1:2 000) 杂交、化学发光显色等步骤, 凝胶图像分析系统测定吸光度 (A) 值。每个样品重复测量 3 次, 取均值分析。 β -actin (1:1 000) 为内参照物。

1.7 ELISA 法测定肝组织中 IL-8 水平

依试剂盒说明书, 将 0.1 g 肝组织用 1 mL 生理盐水匀浆, 离心取上清, 450 nm 测定 A 值。

1.8 Egr-1 对大鼠肝脏 HepG2 细胞中 IL-8 表达的调控作用

1.8.1 HepG2 细胞培养及脂肪肝模型构建 将大鼠肝脏 HepG2 细胞在 37 °C 复苏, 用含 10% 胎牛血清、1 g/L 青链霉素双抗的 RPMI 1640 培养基接种于 2 g/L 明胶包被的培养瓶, 置常规培养条件下 (37 °C、5% CO₂) 培养, 每 3 天换液 1 次。细胞生长至 70% 融合时, 以 0.15% 胰酶消化, 收集细胞并以 1:3 的比例传代。取第 3~6 代细胞用于实验。

1.8.2 Egr-1 对 HepG2 细胞中 IL-8 表达水平的影响 HepG2 细胞接种于 24 孔板, 密度 1×10^5 /孔, 常规条件培养。细胞分为对照组和模型组, 待细胞贴壁融合至 50%~70% 后, 对照组细胞继续以原培养液培养, 而模型组则更换含 0.25 mmol/L 油酸的培养液处理 24 h, 以诱导形成脂肪肝细胞模型。RT-qPCR 法检测细胞中 Egr-1、IL-8 mRNA 表达, Western blotting 法检测 Egr-1 蛋白表达, ELISA 法

检测培养液上清中 IL-8 水平。

1.8.3 抑制 Egr-1 对 HepG2 细胞 IL-8 表达水平的影响 将 Egr-1 siRNA 阴性对照、Egr-1 siRNA #1、Egr-1 siRNA #2 在 Lipofectamine 2000 的介导下分别转染贴壁融合至 50%~70% 的 HepG2 细胞, 转染后 24 h 取部分细胞, Western blotting 法测定干扰效率; 再以 0.25 mmol/L 油酸诱导 24 h, RT-qPCR 法检测细胞中 IL-8 mRNA 表达, ELISA 法检测培养液上清中 IL-8 水平。

1.8.4 增强 Egr-1 对 HepG2 细胞 IL-8 表达水平的影响 将 1 μ g pcDNA3.1-Egr-1 (阳性表达质粒) 或 pcDNA3.1 (阴性对照质粒) 在 Lipofectamine 2000 的介导下分别转染贴壁融合至 50%~70% 的 HepG2 细胞, 常规条件培养 24 h 后, 更换培养基, 以 0.25 mmol/L 油酸诱导 24 h, RT-qPCR 法检测细胞中 Egr-1、IL-8 mRNA 表达, Western blotting 法检测 Egr-1 蛋白表达, ELISA 法检测培养液上清中 IL-8 水平。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计。所有数据均行正态分布和方差齐性检验, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用两独立样本 t 检验或单因素方差分析。

2 结果

2.1 强肝胶囊对脂肪肝大鼠肝脏组织 TG 和 TC 水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肝脏 TG、TC 水平均显著升高 ($P < 0.01$); 经过 8 周治疗, 强肝胶囊组 TG、TC 水平明显下降 ($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 强肝胶囊对脂肪肝大鼠肝脏 TG 和 TC 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effect of Qianggan Capsule on the levels of TG and TC in the liver of fatty liver rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·g ⁻¹)	TG/(mmol·g ⁻¹)	TC/(mmol·g ⁻¹)
对照	—	0.69 ± 0.11	2.23 ± 0.20
模型	—	1.47 ± 0.16**	4.17 ± 0.39**
强肝胶囊	0.53	0.94 ± 0.18 ^{##}	2.83 ± 0.18 ^{##}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{##} $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group, ^{##} $P < 0.01$ vs model group

2.2 强肝胶囊对脂肪肝大鼠肝脏 Egr-1、IL-8 mRNA 和蛋白以及 IL-8 水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肝脏中 Egr-1

mRNA、Egr-1 蛋白表达、IL-8 mRNA、IL-8 水平均明显升高($P<0.01$);经 8 周治疗,强肝胶囊组 Egr-1 mRNA、Egr-1 蛋白表达、IL-8 mRNA、IL-8 水平均明显下降($P<0.01$),见表 2。

2.3 Egr-1 对 HepG2 细胞中 IL-8 表达的影响

与对照组比较,经油酸诱导的 HepG2 细胞中 Egr-1、IL-8 mRNA 水平升高,Egr-1 蛋白表达增加,细胞培养液上清中 IL-8 水平升高($P<0.01$),见表 3。

表 2 强肝胶囊对脂肪肝大鼠肝脏 Egr-1 和 IL-8 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2 Effect of Qianggan Capsule on the levels of Egr-1 and IL-8 in the liver of fatty liver rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量/(mg·g ⁻¹)	Egr-1 mRNA/%	Egr-1 蛋白/%	IL-8 mRNA/%	IL-8/(pg·g ⁻¹)
对照	—	100.15±12.13	100.01±17.29	100.03±8.35	23.41±1.72
模型	—	165.22±19.40**	213.36±15.42	429.81±37.42**	158.69±7.37**
强肝胶囊	0.53	120.64±11.35 [#]	108.82±9.40	232.55±23.71 ^{##}	63.20±6.58 ^{##}

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: ^{##} $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; ^{##} $P<0.01$ vs model group

表 3 脂肪肝细胞模型中 Egr-1 和 IL-8 表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Expression levels of Egr-1 and IL-8 in cell culture model of fatty liver disease ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	Egr-1 mRNA/%	Egr-1 蛋白/%	IL-8 mRNA/%	IL-8/(pg·mL ⁻¹)
对照	100.08±9.56	100.00±14.49	100.06±12.45	15.38±1.62
模型	206.77±20.03**	284.32±35.28**	342.36±36.84**	178.12±16.51**

与对照组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group

2.4 抑制 Egr-1 对 HepG2 细胞 IL-8 表达的影响

Egr-1 siRNA#1、siRNA#2 能明显降低 Egr-1 表达水平,见图 1。

采用 siRNA 干扰 Egr-1 基因,并用油酸处理 HepG2 细胞后,细胞内和培养液上清中 IL-8 水平较对照细胞显著降低($P<0.01$),结果说明 Egr-1 正调控 IL-8 的表达,见表 4。

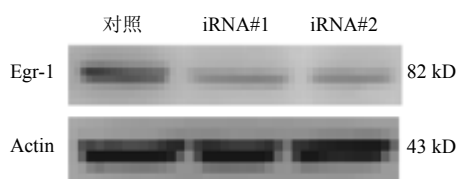


图 1 Egr-1 基因的干扰效率

Fig. 1 Interference efficiency of Egr-1 gene

表 4 抑制 Egr-1 表达对脂肪肝细胞模型中 IL-8 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of IL-8 levels in cell culture model of fatty liver disease after inhibition of Egr-1 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	IL-8 mRNA/%	IL-8/(pg·mL ⁻¹)
对照	100.06±12.45	175.27±20.72
Egr-1 siRNA#1	35.93±15.32**	23.70±3.51**
Egr-1 siRNA#2	28.17±14.10**	33.85±4.46**

与阴性对照组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs negative group

2.5 增强 Egr-1 对 HepG2 细胞 IL-8 表达的影响

转染 Egr-1 阳性表达质粒导致 Egr-1 表达量上升($P<0.01$),IL-8 表达也同步升高($P<0.01$),进一步证实 Egr-1 正调控 IL-8 表达,见表 5。

表 5 转染 pcDNA3.1-Egr-1 对脂肪肝细胞模型中 Egr-1 和 IL-8 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Effect of Egr-1 and IL-8 expression in cell model of fatty liver disease after pcDNA3.1-Egr-1 transfection ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	Egr-1 mRNA/%	Egr-1 蛋白/%	IL-8 mRNA/%	IL-8/(pg·mL ⁻¹)
阴性对照质粒	100.08±9.56	100.12±15.52	100.06±12.45	160.57±3.61
阳性表达质粒	165.02±13.85**	189.93±24.33**	192.43±24.81**	235.94±22.40**

与阴性对照组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs negative group

3 讨论

非酒精性脂肪肝病病因复杂,与肥胖、糖尿病、高脂血症、糖尿病等多种原因相关,是代谢综合征在肝脏的病理表现^[1]。非酒精性脂肪肝病发病机制不明,近年来慢性炎症反应在其发病过程中的作用受到越来越多的关注。脂肪肝“二次打击学说”也认为,首次打击是肝内三酰甘油过度聚集;第二次打击则有炎症因子、脂质过氧化损伤等因素参与,最终导致肝细胞炎性坏死和肝脏损伤。

Egr-1 为核转录因子,通过调控 TNF- α 、IL-6、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 等多种炎症因子的表达参与调节机体炎症反应^[2]。肝损伤早期,枯否细胞分泌 TNF- α 等炎症因子启动肝内炎症级联反应。Egr-1 能与 TNF- α 基因启动子结合并促进其转录,参与早期炎症反应的调控。非酒精性脂肪肝患者和动物的肝脏中, Egr-1 与 TNF- α 水平均升高,并与疾病严重程度呈正相关^[8]。在酒精性脂肪肝、半乳糖胺/脂多糖诱导的急性肝损害模型等的肝脏中,也发现 Egr-1 表达升高,而敲除 Egr-1 基因则炎症因子水平显著降低、肝细胞凋亡和炎性浸润减少^[9-10]。

IL-8 与肝损害关系密切,其血清水平与肝损害程度呈正相关^[10]。在非酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化、肝癌的患者或动物模型的血清或肝脏内,均发现 IL-8 水平明显增高^[11-12]。Egr-1 对 IL-8 表达的调节作用尚鲜有报道。目前仅在卵巢癌^[13]、前列腺癌^[14]中证实 Egr-1 对 IL-8 具有调控作用,在肿瘤细胞中增加 Egr-1 表达后 IL-8 随之增多;而敲除 Egr-1 基因则导致 IL-8 表达下降,且肿瘤细胞增殖能力和和浸润能力均下降。

非酒精性脂肪肝在中医学中属“积聚”、“痰浊”等范畴,多由过食肥甘、肝气郁滞、湿热内停、瘀血内阻发展而起。强肝胶囊由茵陈、板蓝根、当归、白芍、丹参、郁金、黄芪、党参、泽泻、黄精、地黄、山药、山楂、六神曲、秦艽、甘草 16 味中药组成^[15],具有清热利湿、补脾养血、益气解郁的功效。临床用于治疗非酒精性脂肪肝,取得了良好疗效^[5]。本研究表明,强肝胶囊不仅能降低非酒精性脂肪肝大鼠肝脏 TC 和 TG 水平,还能明显降低 Egr-1、IL-8 mRNA 和蛋白表达水平。脂质在肝脏堆积不仅引起肝细胞的脂肪样变性,还能分泌 IL-8、TNF- α 等炎症因子,恶化肝细胞的生存微环境。强肝胶囊除了具有改善脂代谢的作用,还通过减少 IL-8 等炎症因

子水平,减轻了机体炎症反应,从而延缓非酒精性脂肪肝的病情进展。进一步机制研究表明, Egr-1 对 IL-8 表达具有正向调控作用,增强肝脏 HepG2 细胞 Egr-1 表达,可导致 IL-8 表达随之增多;而干扰 Egr-1 表达则导致 IL-8 水平下降。提示强肝胶囊通过抑制 Egr-1 介导的 IL-8 表达,达到改善非酒精性脂肪肝的作用。

本研究结果证实, Egr-1 可正向调节 IL-8 表达。同时也证实,强肝胶囊通过抑制 Egr-1 介导的 IL-8 表达,达到改善非酒精性脂肪肝的作用。目前,西医治疗脂肪肝尚无特效药物;降脂药物由于可使更多的血脂集中于肝脏代谢,从而加重脂肪在肝脏蓄积而加重肝损害,在使用上也存在一定争议。中医药治疗脂肪肝有独特优势,其改善非酒精性脂肪肝的机制的阐明,也有助于在临床上进一步推广应用。

参考文献

- [1] Rinella M E. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review [J]. *JAMA* 2015, 313(22): 2263-2273.
- [2] McMahon S B, Monroe J G. The role of early growth response gene 1 (egr-1) in regulation of the immune response [J]. *J Leukoc Bio*, 1996, 60(2): 159-166.
- [3] Ganji S H, Kashyap M L, Kamanna V S. Niacin inhibits fat accumulation, oxidative stress, and inflammatory cytokine IL-8 in cultured hepatocytes: Impact on non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Metabolism*, 2015, 64(9): 982-990.
- [4] 马玉珍, 叶路, 李建芳, 等. 肝纤维化小鼠血清 IL-8 的变化 [J]. *华西医学*, 2007, 22(1): 115.
- [5] 刘红芬, 范亚坤, 张淑梅, 等. 强肝胶囊治疗单纯性肥胖脂肪肝患者临床疗效及瘦素的变化特征 [J]. *河北医科大学学报*, 2016, 37(11): 1257-1259, 1269.
- [6] 郝丽红. 强肝胶囊对非酒精性脂肪肝患者临床症状改善情况及肝功能的影响 [J]. *实用临床医药杂志*, 2015, 19(1): 126-127.
- [7] 刘庆丰, 李中东, 施孝金, 等. 高脂血症非酒精性脂肪肝大鼠模型的建立 [J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(1): 171-172.
- [8] Potte W, Siddiqui M S, Sanyal A J. Vascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2015, 41(5): 488-493.
- [9] Liu J. Ethanol and liver: recent insights into the mechanisms of ethanol-induced fatty liver [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(40): 14672-14685.
- [10] Cho H I, Hong J M, Choi J W, et al. β -Caryophyllene alleviates D-galactosamine and lipopolysaccharide-induced hepatic injury through suppression of the TLR4 and

- RAGE signaling pathways [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 764: 613-621.
- [11] Tilg H, Moschen A R, Szabo G. Interleukin-1 and inflammasomes in alcoholic liver disease/acute alcoholic hepatitis and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2016, 64(3): 955-965.
- [12] Tasci I, Doqru T, Ercin C N, *et al.* Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Aliment Pharmacol & Ther*, 2008, 28(2):266-267.
- [13] Singha B, Manna S, Phyto S A, *et al.* Bortezomib increases IL-8 expression in ovarian cancer cells through IKK and EGR-1 pathways [J]. *Aquaculture*, 2013, 199(199): 185-193.
- [14] Ma J, Ren Z, Ma Y, *et al.* Targeted knockdown of EGR-1 inhibits IL-8 production and IL-8-mediated invasion of prostate cancer cells through suppressing EGR-1/NF-kappaB synergy [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(50): 34600-34606.
- [15] 韦 辉, 刘素香, 刘 毅, 等. 强肝胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. *中草药*, 2013, 44(7): 845-850.