

余甘子鞣质对代谢相关脂肪性肝病小鼠脂质代谢及肠道菌群的调节作用

张艳鹤¹, 郑亚云¹, 芦超¹, 常文娟¹, 靳菲菲¹, 李锦秀¹, 张超²

1. 焦作市人民医院 中西医结合消化内科, 河南 焦作 454000

2. 河南省医药科学研究所 药理研究室, 河南 郑州 450052

摘要: 目的 研究余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 鞣质对代谢相关脂肪性肝病 (MAFLD) 小鼠脂质代谢及肠道菌群的调节作用。方法 将 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组和余甘子鞣质低、高剂量 (200、400 mg·kg⁻¹) 组及非诺贝特 (阳性药, 50 mg·kg⁻¹) 组, 每组 10 只。对照组小鼠常规饲料喂养, 其余各组小鼠均给予高脂饲料喂养, 建立 MAFLD 小鼠模型; ig 给予相应药物干预, 对照组及模型组给予同体积生理盐水, 每天 1 次, 连续给药 8 周。处死小鼠, 收集血液、肝脏、粪便。计算肝脏系数; HE 染色法观察肝组织病理学变化; 试剂盒法检测小鼠血清中丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC) 含量; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 及 Western blotting 法检测肝组织中固醇调节元件结合蛋白 (SREBP-1)、脂肪酸合成酶 (FASN)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) mRNA 和蛋白表达量; PCR 扩增法检测实验前后小鼠粪便双歧杆菌、乳酸杆菌的含量变化。结果 与模型组比较, 低、高剂量余甘子鞣质干预后小鼠肝脏系数显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 小鼠肝组织脂肪变程度减轻; 小鼠血清中 ALT、AST、TG、TC 水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$); 肝组织中 SREBP-1、FASN、ACC mRNA 和蛋白水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$); 粪便中双歧杆菌、乳酸杆菌的含量显著升高 ($P < 0.01$)。结论 余甘子鞣质能够通过 SREBP-1/FASN/ACC 通路调节脂质代谢、改善肠道菌群平衡, 改善 MAFLD。

关键词: 余甘子; 鞣质; 代谢相关脂肪性肝病; 肠道菌群; 固醇调节元件结合蛋白 (SREBP-1); 脂肪酸合成酶 (FASN); 乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC)

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 02-0287-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.02.012

Effect and mechanism of tannin part of *Phyllanthus emblica* on lipid metabolism and intestinal flora in MAFLD mice

ZHANG Yanhe¹, ZHENG Yayun¹, LU Chao¹, CHANG Wenjuan¹, JIN Feifei¹, LI Jinxiu¹, ZHANG Chao²

1. Department of Gastroenterology, Jiaozuo People's Hospital, Jiaozuo 454000, China

2. Pharmacology Laboratory, Henan Academy of Medical Sciences, Zhengzhou 450052, China

Abstract: **Objective** To study the effect of tannin part of *Phyllanthus emblica* on fatty acid metabolism and intestinal flora in metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) mice. **Methods** C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group, low and high dose (200 and 400 mg·kg⁻¹) tannin part of *Phyllanthus emblica* group and fenofibrate (positive, 50 mg·kg⁻¹) group, 10 rats in each group. Control mice fed normal diet, the other groups of mice were given a high fat diet to establish the MAFLD model. At the same time, tannin part of *Phyllanthus emblica* low and high dose drugs were given to the corresponding drug intervention, and the control group and model group were given the same volume saline. After eight weeks of continuous administration, mice were executed to collect blood, liver tissue and faeces samples. HE staining method was used to observe the pathological changes of liver tissue and the biochemical instrument was used to detect the content of ALT, AST, TG and TC in serum of mice. Western blotting and qRT-PCR were used to detect the expression of gene proteins such as SREBP-1, FASN and ACC in liver tissue, and qPCR to detect the number of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in mouse faeces. **Results** Compared with model group, in low and high dose tannin part of *Phyllanthus emblica* group, the liver index in mice was significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), the degree of fat change in liver tissue was alleviated, the serum levels of ALT, AST, TG and TC were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), mRNA and protein levels of SREBP-1, FASN and ACC in liver tissue were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), the contents of *Bifidobacteria* and *Lactobacillus* in feces were significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** The tannin part of *Phyllanthus emblica* can lipid metabolism through SREBP-1/FASN pathway, and can regulate intestinal flora balance, which has a certain preventive effect on MAFLD.

收稿日期: 2021-06-03

基金项目: 河南省科技发展规划 (152300410160)

第一作者: 张艳鹤 (1982—), 女, 研究方向为中西医结合消化内科。Tel: 13619857273 E-mail: 3324851803@qq.com

Key words: *Phyllanthus emblica* L.; tannins; metabolic associated fatty liver disease (MAFLD); intestinal flora; sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1); fatty acid synthase (FASN); acetyl-coA carboxylase (ACC)

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)指除外酒精和其他明确的损肝因素所致的,以肝细胞内脂肪过度沉积为主要特征的临床病理综合征^[1],能够导致肝炎、肝硬化、肝细胞癌等^[2-4],严重威胁人类的生命健康。MAFLD的发病机制主要包括脂代谢紊乱、胰岛素抵抗、脂质过氧化等^[5-6],其中脂代谢紊乱对MAFLD的发生发展起着重要作用。近年来大量研究证实,肠道菌群失调能够改变肠道通透性,使大量游离脂肪酸进入肝脏导致肝内大量脂质沉积,诱导肝细胞氧化损伤,促进MAFLD的发生发展^[7-8]。近年来,随着人们生活方式及饮食结构的变化,MAFLD的发病率逐年上升^[9]。因此寻求治疗MAFLD的药物具有重要意义。

余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 是大戟科叶下珠属植物余甘的果实。余甘子主要化学成分有鞣质类、黄酮类、挥发油类和脂肪酸等^[10],具有保护心血管、治疗糖尿病、保肝、抗炎、抗肿瘤等^[11-13]广泛的药理活性。余甘子富含鞣质类成分,其中新鲜余甘子果实鞣质含量可达40%,干燥药材中鞣质含量可达15%^[14]。鞣质是存在于植物体内的一类结构比较复杂的多元酚类化合物,其分子结构中具有多个活性酚羟基,能够与机体中氧自由基结合发挥显著的抗氧化作用^[15-16],因此余甘子也被称作天然抗氧化剂,是我国重要的药食同源植物。大量研究表明,鞣质归肝、肠经,其作用部位在肝、肠,具有涩肠止泻、收敛的作用^[17-18]。Huang等^[19]的体外研究表明余甘子具有改善脂肪酸累积的作用,但是体内关于余甘子改善MAFLD及调节肠道菌群的研究报道较少,因此本实验运用高脂饮食建立MAFLD小鼠模型,探讨余甘子鞣质对MAFLD小鼠脂代谢及肠道菌群的调节作用,为余甘子防治MAFLD提供理论依据。

1 材料

1.1 实验动物

雄性C57BL/6小鼠50只,体质量20~25 g,购于广东省实验动物中心,实验动物生产许可证号SCXK(粤)2018-0062,饲养于SPF屏障环境中,饲养温度(25±1)℃,相对湿度在60%~70%,自由取食、进水,昼夜交替时间为12 h,所有动物实验操作过程均按照相关动物管理规章进行。

1.2 药品与主要试剂

余甘子鞣质(购自康美世纪国药有限公司,采

用传统的超声提取法提取鞣质,石油醚脱脂得精制鞣质,采用福林酚比色法测定其鞣质质量分数为89.5%);非诺贝特(货号C14201003061,法国利博福尼制药公司);基础饲料、高脂饲料(配方为蔗糖20.0%、精炼猪油10.0%、胆固醇2.0%、猪胆盐0.3%、普通饲料67.7%)均购自广东省实验动物中心;天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;BCA蛋白定量试剂盒(批号23227)、ECL超敏化学发光液(批号34580)、哺乳动物蛋白提取试剂盒(批号78501)、TRIzol™ RNA提取试剂(批号15596026)、逆转录酶(批号18090010)等购自美国Thermo Fisher Scientific公司;固醇调节元件结合蛋白(SREBP-1)、脂肪酸合成酶(FASN)、乙酰辅酶A羧化酶(ACC)、双歧杆菌、乳酸杆菌、 β -actin上下游引物由北京康为世纪生物科技有限公司设计合成;实时荧光定量PCR(qRT-PCR)试剂购自上海星汉生物科技有限公司;FASN兔单克隆抗体、ACC兔单克隆抗体、 β -actin兔单克隆抗体、辣根过氧化物酶-羊抗兔IgG二抗等购自美国CST公司;SREBP-1兔单克隆抗体购自美国Abcam公司;Criterion预制Tris-HCl凝胶购自美国伯乐公司;其余试剂均为实验室常用规格。

1.3 主要仪器

高速冷冻离心机(Allegra,美国贝克曼公司);精密天平(FA201N,上海菁海仪器有限公司);生化检测仪(CS-6400,长春迪瑞医疗科技股份有限公司);酶标仪(xMark)、Trans-Blot蛋白转膜系统、CFX96型实时荧光定量PCR仪等购自美国伯乐公司;倒置显微镜(GX53,日本奥林巴斯公司);涡旋仪(Vortex Mixer,上海凌仪生物科技有限公司);超声仪(DSA300-GL2,杭州畅烽机电有限公司);超声破碎仪(JP-650Y,上海旌派仪器有限公司);CellSens图像采集系统(Olympus);化学发光成像分析系统(G:BOX,英国SYNGENE公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药

将50只雄性C57BL/6小鼠随机分为对照组、模型组、非诺贝特(阳性药,50 mg·kg⁻¹)组及余甘子鞣质低、高剂量(200、400 mg·kg⁻¹)组,每组10只。对照组小鼠常规饲料喂养,其余各组小鼠均给予高脂

饮食喂养8周,建立MAFLD小鼠模型。称取适量余甘子鞣质粉末置于适量生理盐水中充分溶解,配制成质量浓度为25 mg·mL⁻¹的溶液。ig给予各组相应药物,对照组及模型组给予同体积生理盐水,每天给药1次,连续给药8周。高脂饲料喂养8周后,模型组较对照组肝组织脂肪变性严重,含有大量脂肪空泡,血脂水平升高,证明模型成功。末次给药后禁食12 h,饮水自由。眼眶取血,3 000 r·min⁻¹离心15 min分离血清;取肝组织;收集实验开始前及实验结束后各组小鼠粪便样本。

2.2 肝组织病理学检测

取小鼠肝组织,称质量,计算肝脏系数。取适量肝组织置于固定液中固定,经过包埋、切片后运用HE染色法染色,置于显微镜下观察肝组织脂肪变性情况。

肝脏系数=肝脏质量/体质量

2.3 血清生化指标检测

试剂盒法检测各组小鼠血清中AST、ALT、TG、TC水平。

2.4 qRT-PCR检测肝组织中SREBP-1、FASN、ACC mRNA的表达

取肝组织50 mg,运用RNA提取试剂盒提取RNA,经逆转录酶将RNA逆转录成cDNA,检测SREBP-1、FASN、ACC mRNA的表达水平。PCR扩增条件(反应体系为20 μL):95 °C预变性2 min;95 °C变性10 s,60 °C退火30 s;72 °C延伸15 s,共40个循环。以β-actin作为内参,采用2^{-ΔΔCt}法计算mRNA的相对表达量。引物序列见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列	长度 bp
β-actin	正向:5'-CGTTGACATCCGTAAAGACCTC-3'	110
	反向:5'-TAGGAGCCAGGGCAGTAATCT-3'	
SREBP-1	正向:5'-GCCGGCGCCATGGACGAGCTGG-3'	264
	反向:5'-CAGGAAGGTTCCAGAGAGGAG-3'	
FASN	正向:5'-ATATTGTCGCTGAGGCTGTTGTAG-3'	114
	反向:5'-TGCTCCTTGCTGCCATCTATATTG-3'	
ACC	正向:5'-AGCGCTACCGTTCTCTATCAA-3'	118
	反向:5'-GCTGTAAGAAGCGGATGTAGTCG-3'	
双歧杆菌	正向:5'-GATTCTGGCTCAGGATGAACG-3'	21
	反向:5'-CGGGTGCTTCCCACTTTCATG-3'	
乳酸杆菌	正向:5'-AGCAGTAGGGAATCTTCCA-3'	200
	反向:5'-CGCCACTGGTGTTCTCATATA-3'	

2.5 Western blotting检测肝组织SREBP-1、FASN、ACC蛋白表达

取50 mg肝组织,加入哺乳动物蛋白提取试剂,提取组织蛋白,运用BCA试剂盒测定蛋白含量。取100 μg蛋白样品经过电泳分离后,转至PVDF膜上,置于封闭液中封闭2 h后,加入SREBP-1、FASN、ACC一抗在4 °C孵育过夜,TBST清洗5次,每次5 min,加入二抗孵育1 h,洗膜后ECL显色,用G:BOX成像分析系统获得条带,以β-actin作为内参,进行灰度值分析。

2.6 小鼠肠道双歧杆菌、乳酸杆菌含量检测

按照粪便基因组DNA试剂盒说明书提取DNA并进行浓度测定后,扩增出细菌16S rDNA基因V3-V4区域。配制PCR体系完成后按照如下反应条件进行PCR扩增:94 °C变性3 min,94 °C变性30 s,45 °C退火30 s,65 °C延伸30 s,进行5个循环反应,随后94 °C变性20 s,55 °C退火20 s,72 °C延伸20 s,进行20个循环反应,最后在72 °C下延伸反应5 min。反应产物经纯化后用Nanodrop微量分光光度计进行定量,利用测序平台检测实验前后小鼠肠道双歧杆菌、乳酸杆菌的含量变化,双歧杆菌、乳酸杆菌引物序列见表1。

2.7 统计学方法

采用SPSS 13.0软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 各组小鼠肝组织病理学变化

如表2所示,与对照组比较,模型组小鼠肝脏系数显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,低、高剂量余甘子鞣质干预后小鼠肝脏系数显著降低($P < 0.05$)。

表2 各组小鼠肝脏系数($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Liver weight index of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肝脏系数/%
对照	—	4.24±0.87
模型	—	9.26±2.04 ^{##}
余甘子鞣质	200	7.48±1.28 [*]
	400	7.13±2.06 [*]
非诺贝特	50	6.24±1.59 ^{**}

与对照组比较:^{##} $P < 0.01$;与模型组比较:^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

运用H&E染色法观察各组小鼠肝组织病理学变化(图1),与对照组比较,模型组小鼠肝组织脂肪变性严重,含有大量脂肪空泡,与模型组比较,低、

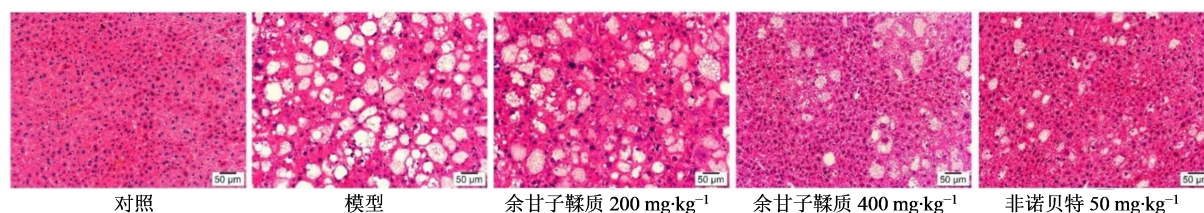


图1 各组小鼠肝组织HE染色(×200)

Fig. 1 HE staining of liver tissue in each group of mice (×200)

高剂量余甘子鞣质干预后小鼠肝组织脂肪变程度减轻,表明余甘子鞣质对高脂诱导的小鼠MAFLD具有一定的治疗作用。

3.2 各组小鼠血清生化指标比较

结果如表3所示,与对照组比较,模型组ALT、AST、TG、TC水平均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,低、高剂量余甘子鞣质干预后小鼠血清中ALT、AST、TG、TC水平均显著降低,且具有统计学意义($P<0.05$ 、 0.01)。

3.3 各组小鼠肝组织中SREBP-1、FASN、ACC mRNA的表达水平

结果如表4所示,与对照组比较,模型组SREBP-1、FASN、ACC mRNA水平均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,低、高剂量余甘子鞣质干预后小鼠肝组织中SREBP-1、FASN、ACC mRNA水平均

显著降低($P<0.05$ 、 0.01),表明余甘子鞣质对脂肪酸合成代谢相关转录因子具有调控作用。

3.4 各组小鼠肝组织中SREBP-1、FASN、ACC蛋白的表达水平

结果如图2所示,与对照组比较,模型组SREBP-1、FASN、ACC蛋白水平均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,低、高剂量余甘子鞣质干预后小鼠肝组织中SREBP-1、FASN、ACC蛋白水平显著降低($P<0.05$ 、 0.01)。表明余甘子鞣质具有调控脂肪酸合成代谢相关蛋白的表达、抑制脂肪酸合成、促进脂肪酸代谢的作用。

3.5 实验前后小鼠肠道菌群的变化

结果如图3所示,与对照组比较,模型组小鼠粪便中双歧杆菌、乳酸杆菌含量显著减少($P<0.01$);与模型组比较,低、高剂量余甘子鞣质干预后能够

表3 各组小鼠血清生化指标($\bar{x}\pm s$, $n=10$)Table 3 Serum biochemical indices of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	TG/(μmol·L ⁻¹)	TC/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	35.7±4.9	27.8±5.2	0.18±0.05	0.16±0.06
模型	—	132.0±15.3 ^{##}	81.5±12.3 ^{##}	1.57±0.36 ^{##}	0.64±0.12 ^{##}
余甘子鞣质	200	105.5±7.8*	73.6±8.4	1.04±0.25*	0.36±0.23*
	400	74.6±7.5**	59.7±6.6**	0.75±0.18**	0.30±0.25**
非诺贝特	50	56.2±5.6**	47.8±5.8**	0.56±0.21**	0.22±0.14**

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

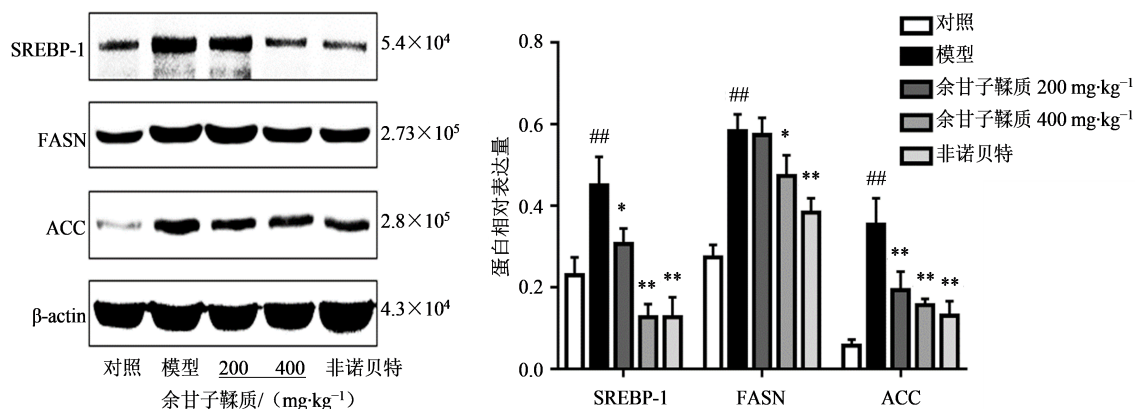
^{##} $P<0.01$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

表4 小鼠肝组织中SREBP-1、FASN、ACC mRNA的表达水平($\bar{x}\pm s$, $n=3$)Table 4 Expression level of SREBP-1, FASN and ACC mRNA in liver tissue of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SREBP-1/β-actin	FASN/β-actin	ACC/β-actin
对照	—	1.5±0.2	1.2±0.2	2.1±0.2
模型	—	4.7±0.7 ^{##}	3.5±0.6 ^{##}	6.3±0.5 ^{##}
余甘子鞣质	200	3.7±0.5*	2.6±0.4**	5.5±0.4*
	400	2.9±0.2**	2.2±0.5**	3.8±0.1**
非诺贝特	50	2.4±0.2**	2.0±0.4**	3.0±0.1**

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

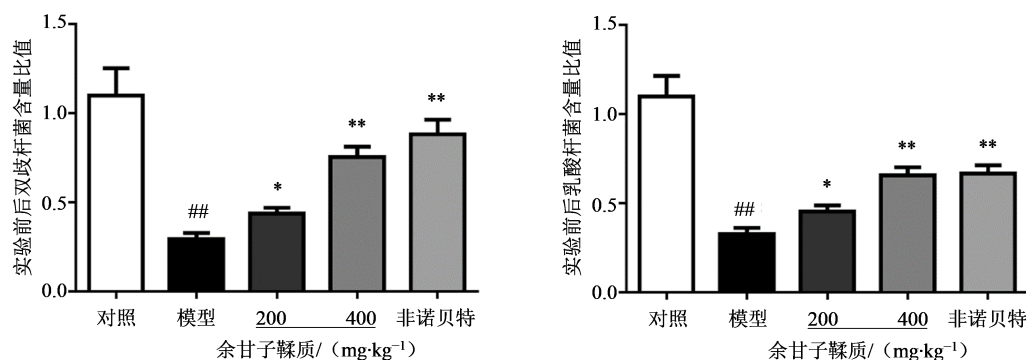


与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

图2 小鼠肝组织中SREBP-1、FASN、ACC蛋白的表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Expressions of SREBP-1, FASN and ACC proteins in mouse liver ($\bar{x} \pm s, n=3$)



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

图3 实验前后小鼠双歧杆菌、乳酸杆菌含量的变化($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 3 Changes of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in mice before and after experiment ($\bar{x} \pm s, n=10$)

升高双歧杆菌、乳酸杆菌的含量($P < 0.05, 0.01$),表明余甘子鞣质对肠道菌群紊乱具有一定的调节作用。

4 讨论

脂代谢紊乱及肠道菌群失衡与MAFLD的发生发展密切相关^[20]。研究表明脂肪酸代谢异常是MAFLD形成的重要原因。不良饮食习惯、环境和遗传等因素使血液中的游离脂肪酸(FFAs)与胆固醇(cholesterol, CH)水平升高,进而引起肥胖和肠道菌群失衡,导致脂代谢紊乱,增强的肝脏脂肪流量(hepatic FFAs flux, 包括食物来源、外周脂肪分解、肝脏脂肪酸从头合成)促进肝细胞内TG沉积;过量的脂肪酸和脂代谢毒性产物介导肝脏脂毒性,引起肝细胞线粒体功能障碍导致肝细胞氧化损伤。肠道菌群失衡使小肠壁渗透性增强,细菌内毒素和炎症促进因子释放进入血液循环,协同促进

MAFLD发展^[21-22]。双歧杆菌、乳酸杆菌是人体肠道优势菌群,具有促进发育、提高免疫力、延缓衰老等作用,对于维持机体肠道菌群稳态平衡具有重要作用^[23]。SREBP-1是调控脂质代谢相关基因重要转录因子,SREBP-1能够调控FASN促进脂肪酸从头合成^[24-25]。FASN是催化从乙酰辅酶A和丙二酸单酰辅酶A合成长链脂肪酸的关键酶^[26],是目前研究最为深入的参与脂肪酸合成的蛋白分子。ACC是脂肪酸合成过程中的限速酶^[27],催化脂肪酸从头合成。SREBP-1/FASN/ACC信号通路调控脂肪酸合成,在MAFLD的发生发展过程中具有重要作用。

余甘子是一种常用的药食同源植物,具有抗氧化、抗炎、保肝、预防心血管疾病等多种作用。本实验运用高脂饮食诱导建立小鼠MAFLD模型,探讨余甘子鞣质改善MAFLD的作用及机制。研究结果表明,余甘子鞣质能够通过调控SREBP-1/FASN/

ACC信号通路,抑制脂肪酸从头合成,调节脂代谢,降低小鼠血清中AST、ALT、TG、TC的含量,改善高脂饮食诱导的小鼠脂肪变性,调节肠道菌群紊乱从而发挥防治MAFLD的作用。余甘子鞣质富含可水解鞣质,研究表明余甘子鞣质在体内经过代谢转化能够形成鞣花酸(ellagic acid)、尿石素类物质(urolithins)^[28]等生物活性物质,余甘子通过SREBP-1/FASN/ACC信号通路调控脂代谢改善MAFLD的药效学物质基础是否是鞣花酸、尿石素类物质仍需要进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 郭亮, 汤其群. 代谢相关脂肪性肝病疾病发病机制和治疗的研究进展 [J]. 生命科学, 2018, 30(11): 1165-1172.
Guo L, Tang Q Q. Research progress in the pathogenesis and treatment of metabolic-related fatty liver disease [J]. Life Sci, 2018, 30(11): 1165-1172.
- [2] 刘笑雷, 杨志英. 代谢相关脂肪性肝病疾病与原发性肝癌关系的研究进展 [J]. 癌症进展, 2014, 12(1): 59-63.
Liu X L, Yang Z Y. Research progress on the relationship between metabolic-related fatty liver disease and primary liver cancer [J]. Can Prog, 2014, 12(1): 59-63.
- [3] Younossi Z M, Otgonsuren M, Henry L, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009 [J]. Hepatology, 2015, 62(6): 1723-1730.
- [4] Salomao M, Yu W M, Brown R S, et al. Steatohepatic hepatocellular carcinoma (SH-HCC): A distinctive histological variant of HCC in hepatitis C virus-related cirrhosis with associated NAFLD/NASH [J]. Am J Surg Pathol, 2010, 34(11): 1630-1636.
- [5] Byrne C D, Targher G. NAFLD: a multisystem disease [J]. J Hepatol, 2015, 62(1 Suppl): S47-S64.
- [6] Brunt E M, Kleiner D E, Wilson L A, et al. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: Distinct clinicopathologic meanings [J]. Hepatology, 2011, 53(3): 810-820.
- [7] 唐外姣, 周本杰. 肠道菌群失调: 非酒精性脂肪肝病治疗新靶点 [J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(22): 2000-2006.
Tang W J, Zhou B J. Imbalance of intestinal flora: A new target for nonalcoholic fatty liver disease treatment [J]. World Chin J Dig, 2017, 25(22): 2000-2006.
- [8] 陈默, 孔银, 王君, 等. 肠道菌群与非酒精性脂肪肝相关性的研究进展 [J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(8): 989-993.
Chen M, Kong Y, Wang J, et al. Correlation between intestinal flora and nonalcoholic fatty liver disease: A review on research progress [J]. Chin J Microecol, 2015, 27(8): 989-993.
- [9] Marchesini G, Mazzotti A. NAFLD incidence and remission: Only a matter of weight gain and weight loss? [J]. J Hepatol, 2015, 62(1): 15-17.
- [10] 吴玲芳, 叶婷, 梁林金, 等. 藏药余甘子鞣质部位主要药效成分在人工胃肠液中的稳定性研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2017, 19(8): 1386-1390.
Wu L F, Ye T, Liang L J, et al. Research on stability of tannin part in *Phyllanthus emblica* L. in artificial gastric and intestinal juice [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2017, 19(8): 1386-1390.
- [11] Liu X L, Cui C, Zhao M M, et al. Identification of phenolics in the fruit of *Emblca* (*Phyllanthus emblica* L.) and their antioxidant activities [J]. Food Chem, 2008, 109(4): 909-915.
- [12] Pramyothin P, Samosorn P, Pongshompoo S, et al. The protective effects of *Phyllanthus emblica* Linn. extract on ethanol induced rat hepatic injury [J]. J Ethnopharmacol, 2006, 107(3): 361-364.
- [13] Zhou J X, Zhang C, Zheng G H, et al. Emblic leaf flower (*Phyllanthus emblica* L.) fruits ameliorate vascular smooth muscle cell dysfunction in hyperglycemia: An underlying mechanism involved in ellagitannin metabolite urolithin A [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018, 2018: 8478943.
- [14] 吴玲芳, 张鸿雁, 王坤凤, 等. 不同产地藏药余甘子总鞣质含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 61-63.
Wu L F, Zhang H Y, Wang K F, et al. Determination of total tannins in fruits of Tibetan medicine *Phyllanthus emblica* from different areas [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2013, 19(15): 61-63.
- [15] 富臻, 李波, 王源, 等. 塔拉豆荚中鞣质化合物及其抗氧化活性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(10): 55-59.
Fu Z, Li B, Wang Y, et al. Tannins in pods of *Tara* and their antioxidant activities [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2016, 22(10): 55-59.
- [16] 陈鹏, 吴玥, 周本宏. 地榆鞣质改善D-型半乳糖致衰老大鼠抗氧化、抗炎作用的研究 [J]. 中国药师, 2018, 21(4): 562-565.
Chen P, Wu Y, Zhou B H. Studies on the effect of tannins from *Sanguisorba officinalis* L. on antioxidant and anti-inflammation in mouse aging model induced by D-galactose [J]. China Pharm, 2018, 21(4): 562-565.

- [17] 孙艳涛, 王冰. 2010版药典收载中药主要有效成分与归经关系探讨 [J]. 广东化工, 2015, 42(18): 22-23, 34.
Sun Y T, Wang B. Study on the relationship between effective components and meridian tropism of traditional Chinese medicine in Chinese pharmacopoeia 2010 [J]. Guangdong Chem Ind, 2015, 42(18): 22-23, 34.
- [18] 王振飞, 李煜, 戴宝贞, 等. 从地榆对不同癌细胞的抑制效果看中药归经理论的科学性 [J]. 中医药通报, 2007, 6(5): 58-60.
Wang Z F, Li Y, Dai B Z, et al. Seeing the scientific nature of the theory of the meridian return of traditional Chinese medicine from the inhibitory effect of Diyu on different cancer cells [J]. Tradit Chin Med J, 2007, 6(5): 58-60.
- [19] Huang C Z, Tung Y T, Hsia S M, et al. The hepatoprotective effect of *Phyllanthus emblica* L. fruit on high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in SD rats [J]. Food Funct, 2017, 8(2): 842-850.
- [20] Miele, Valenza V, la Torre G, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease [J]. Hepatology, 2009, 49(6): 1877-1887.
- [21] LaRusso N F, Tabibian J H, O'Hara S P. Role of the intestinal microbiome in cholestatic liver disease [J]. Dig Dis, 2017, 35(3): 166-168.
- [22] de Gottardi A, McCoy K D. Evaluation of the gut barrier to intestinal bacteria in non-alcoholic fatty liver disease [J]. J Hepatol, 2011, 55(6): 1181-1183.
- [23] Servin A L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens [J]. FEMS Microbiol Rev, 2004, 28(4): 405-440.
- [24] Hao J, Zhu L, Zhao S, et al. PTEN ameliorates high glucose-induced lipid deposits through regulating SREBP-1/FASN/ACC pathway in renal proximal tubular cells [J]. Exp Cell Res, 2011, 317(11): 1629-1639.
- [25] Luo D, Xiao H W, Dong J L, et al. B7-H3 regulates lipid metabolism of lung cancer through SREBP1-mediated expression of FASN [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 482(4): 1246-1251.
- [26] Du X, Cai C, Yao J L, et al. Histone modifications in FASN modulated by sterol regulatory element-binding protein 1c and carbohydrate responsive-element binding protein under insulin stimulation are related to NAFLD [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 483(1): 409-417.
- [27] Ren R D, Gong J J, Zhao Y Y, et al. Sulfated polysaccharide from *Enteromorpha prolifera* suppresses SREBP-1c and ACC expression to lower serum triglycerides in high-fat diet-induced hyperlipidaemic rats [J]. J Funct Foods, 2018, 40: 722-728.
- [28] 杨光辉, 吴玲芳, 张晓雪, 等. 人肠内菌对藏药余甘子鞣质部位代谢的研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(1): 46-50.
Yang G H, Wu L F, Zhang X X, et al. Effects of human gut microbiota *in vitro* on transformation of the total tannins content of *Phyllanthus emblica* L. [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2016, 39(1): 46-50.

[责任编辑 兰新新]