

- [10] 黄秀深,赵 燕,张力华,等. 中焦湿阻证大鼠红细胞膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性研究[J]. 成都中医药大学学报, 2000, 23(4): 23-24.

[11] 刘 伟. 大鼠湿困脾胃动物模型复制的实验研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2006: 5-9.

[12] 谭康联,陈志强. 胃动素用于胃肠功能评价的研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(2): 156-160.
- [13] 郁保生,石晓理,张国山,等. 小柴胡汤对消化不良模型大鼠胃动素和胃泌素的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(5): 440-444.

[14] 黄秀深,沈 涛,刘 伟,等. 平胃散对湿困脾胃证模型大鼠部分免疫功能的影响[J]. 中医杂志, 2007, 48(8): 730-732.

二氢杨梅素对高脂诱导 ApoE^{-/-} 小鼠肝脏损伤的保护作用及机制

刘海红
(通辽职业学院, 内蒙古 通辽 028000)

摘要: **目的** 本研究探讨二氢杨梅素对高脂诱导的非酒精性脂肪肝小鼠的保护作用及作用机制。**方法** 取健康雄性 ApoE^{-/-}小鼠 40 只,随机分为 4 组,即模型组,二氢杨梅素低、高剂量组,双环醇组,每组 10 只;另取 10 只 C57 小鼠作为对照组。对照组与模型组予以 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液灌胃 0.2 mL/10 g,二氢杨梅素分别以 50、100 mg/(kg·d)混悬液灌胃,双环醇组以 140 mg/(kg·d)混悬液灌胃。高脂饲料(0.3% 胆固醇,20% 脂肪)持续饲养 12 周后,测量各组小鼠的体质量,眼眶取血,分离血清。生化仪检测血脂四项、AST、ALT 水平。HE 染色观察肝脏病理学改变,油红 O 染色观察肝细胞内脂质沉积状况;试剂盒检测氧化酶的表达;TUNEL 实验检测肝脏细胞凋亡情况,应用免疫组化检测肝脏 Bcl-2 和 Caspase-3 的表达。Western 评价肝脏腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)磷酸化水平。**结果** 连续灌胃 12 周后,与对照组相比,模型组小鼠表现出肝脏脂肪变性并伴肝脏氧化损伤;同时 TUNEL 阳性细胞数增多,肝脏中 Caspase-3 表达升高且 Bcl-2 含有量减少;肝组织内 AMPK 磷酸化水平显著升高。与模型组比较,二氢杨梅素高、低剂量组和双环醇组可改善 AST 和 ALT 水平,减轻各治疗组小鼠肝脏脂肪变性,调控氧化酶的表达,降低 TUNEL 阳性细胞数,提高肝脏中 Bcl-2 和减少 Caspase-3 的表达,降低肝组织内 AMPK 磷酸化水平。**结论** 二氢杨梅素能够降低肝脏脂质沉积,保护肝损伤从而改善高脂饲料诱导的 ApoE^{-/-}小鼠非酒精性脂肪肝,其机制可能与其通过下调 AMPK 磷酸化水平进而抑制肝细胞凋亡有关。

关键词: 二氢杨梅素;非酒精性脂肪肝;腺苷酸活化蛋白激酶;细胞凋亡
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)12-2448-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.12.002

Protective effects and mechanism of dihydromyricetin on non-alcoholic fatty liver disease in ApoE^{-/-} mice

LIU Hai-hong
(Tongliao Vocational College, Tongliao 028000, China)

ABSTRACT: **AIM** To explore the protective effects and mechanisms of dihydromyricetin (DHM) against non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in ApoE^{-/-} mice. **METHODS** The 40 male healthy six week-old ApoE^{-/-} mice were randomly divided into model group, DHM (50, 100 mg/kg) group and Bicyclol group. Ten male C57 mice were used as the control group. The control and model groups were administrated with 0.5% CMC-Na solution and the other three groups were given DHM [50, 100 mg/(kg·d), i. g.] and Bicyclol [140 mg/(kg·d), i. g.]. All mice were fed with high fat diet (0.3% cholesterol, 20% fat) for 12 weeks. At the end of the experiment, the blood was collected from the orbit and the serum was separated for blood lipid detection. AST and ALT

expression levels were detected by automatic biochemical analyzer. HE staining and oil red O monitored the liver injury and lipid accumulation. The oxidase enzymes were measured by the commercial kits. The hepatocyte apoptosis was determined by TUNEL assay, and the Bcl-2, Caspase-3 expression levels were detected by immunohistochemistry. The AMPK and phosphorylation of AMPK expression levels were determined by Western blot.

RESULTS After the treatment, liver lipid accumulation and liver injury, TUNEL positive cells sharply increased compared with the control group. Meanwhile, the Caspase-3 expression level was significantly upregulated and the Bcl-2 was markedly downregulated in the model group. DHM [50, 100 mg/(kg · d)] remarkably reduced AST and ALT levels, liver lipid accumulation and TUNEL positive cells and modulated oxidase enzymes expression level compared with the model group. Moreover, DHM obviously increased Bcl-2 expression and decreased Caspase-3 expression in liver tissue, and inhibited AMPK phosphorylation. **CONCLUSION** DHM reduces the lipid accumulation and protects liver injury from high fat diet induced NAFLD mice, the protective mechanism of DHM may be related to inhibiting AMPK phosphorylation and inhibiting hepatocyte apoptosis.

KEY WORDS: dihydromyricetin; NAFLD; AMPK; cell apoptosis

非酒精性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 为临床最常见的慢性肝脏疾病之一, 其病理机制十分复杂, 除与环境、遗传等因素有关外, 还与高脂、高糖等不良饮食习惯密切相关^[1-2]。近年来, 非酒精性脂肪肝的发病率呈逐年上升趋势且发病人群趋于年轻化, NAFLD 可逐步演变并诱发肝脏纤维化、肝硬化和肝癌^[3-4]。研究表明, NAFLD 与胰岛素抵抗、氧化应激、脂质代谢紊乱、脂肪因子异常、肝细胞凋亡等因素密切相关^[5]。因此, 调节脂代谢、抑制肝细胞凋亡等, 使该类代谢性疾病的危险因素降低是临床治疗的重点之一^[6-7]。二氢杨梅素 (dihydromyricetin, DHM) 是黄酮类化合物之一, 广泛存在于杨梅科、葡萄科、杜鹃科、大戟科等植物中。二氢杨梅素具有多重药理作用, 包括抗氧化、抗肿瘤、降血糖、调血脂等^[8-9]。也有研究报道二氢杨梅素具有较好的保肝护肝作用, 而其对高脂诱导的非酒精性脂肪肝的保护作用以及其作用机制还有待进一步研究^[10]。本实验通过高脂饲料喂养 ApoE^{-/-}小鼠, 并同时给予二氢杨梅素, 研究其改善非酒精性脂肪肝的作用, 发现了二氢杨梅素能够减缓高脂饲料诱导的 ApoE^{-/-}小鼠非酒精性脂肪肝, 旨在为二氢杨梅素的作用机制研究及进一步临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 野生型 C57BL/6J 小鼠和 ApoE^{-/-}小鼠, 雄性, 8 周龄, 体质量 18 ~ 22 g, 购于北京维通利华实验动物有限公司, 动物许可证号 SCXK (京) 2016-0011, 自由进食和饮水。二氢杨梅素 (纯度 >98%, 上海融禾医药科技发展有限公司);

双环醇 (北京协和药厂); 谷草转氨酶 (alanine aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶 (aspartate aminotransferase, ALT)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); TUNEL 试剂盒 (德国罗氏公司); 油红 O、羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 以及其他试剂 (美国 Sigma 公司); Bcl-2、Caspase-3、p-AMPK、AMPK、β-Actin (美国 Santa Cruz); 高脂饲料 (0.3% 胆固醇和 20% 脂肪, 北京华阜康生物科技股份有限公司)。

1.1.2 仪器 AU5800 全自动生化仪 (美国贝克曼库尔特公司); 荧光显微镜 (德国 Leica 公司); 台式离心机 (上海安亭科学化学仪器厂); 酶标仪 (奥地利 Tecan 公司); 电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); 凝胶成像系统 (美国 Bio-RAD 公司)。

1.2 方法

1.2.1 非酒精性脂肪肝小鼠模型构建 取健康雄性 ApoE^{-/-}小鼠 40 只, 随机分为 4 组, 即模型组 (Model), 二氢杨梅素低、高剂量组, 双环醇组 (Bicyclol), 每组 10 只, 高脂饲料喂养; 10 只 C57 小鼠作为对照组 (Control), 普通饲料喂养。2 周适应期后, 对照组与模型组予以 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液灌胃, 0.2 mL/10 g, 室温以 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液作为溶剂配制 5 mg/mL 二氢杨梅素混悬液, 以 50、100 mg/(kg · d) 混悬液灌胃, 双环醇组以 140 mg/(kg · d) 混悬液灌胃。持续 12 周后处理动物, 摘取眼球后取血, 室温下血液自然凝固 30 min 后, 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清分

装，置于-20℃保存。剥离肝脏后称重，0.9%氯化钠溶液冲洗干净，多聚甲醛固定肝脏组织并进行组织石蜡和冰冻切片。

1.2.2 肝损伤酶的检测 根据试剂盒说明，用全自动生化仪（贝克曼库尔特 AU5800）进行 ALT、AST 检测。

1.2.3 肝脏 HE 染色 多聚甲醛固定，采用石蜡切片，并随机选择肝脏上相距 50 μm 部位相邻的 2 个观测点的连续 5 张切片，采用 HE 染色，在光镜下观察肝脏脂肪变性程度。

1.2.4 油红 O 染色 小鼠经乙醚麻醉后开胸，生理盐水经心室灌流 5 min 后，取出肝脏并于 OCT 包埋，制作 6 μm 厚冰冻切片。每只鼠连续切 40 张，-80℃冰箱保存。每 5 张抽取一张切片，室温放置 15 min，自来水洗 2 次，每次 15 min，蒸馏水洗 2 min，加入 60% 异丙醇稍洗，油红 60% 异丙醇的油红 O 染液 60℃下作用 1 h，60% 异丙醇分化，自来水终止分化，苏木素复染核 30 s，自来水返蓝，甘油明胶封片。组织切片在 200 倍显微镜下摄取图像。用 Image Pro plus 6.0 进行分析。

1.2.5 试剂盒检测氧化酶的表达 肝脏组织匀浆，根据试剂盒说明检测 CAT、SOD 和 MDA 的表达。

1.2.6 TUNEL 染色 3 μm 的石蜡切片在 60℃下脱蜡 60 min，二甲苯浸洗 10 min 2 次。组织切片然后进行以下操作：100% 乙醇浸洗 2 次，95%、90%、85%、70%、50% 乙醇浸洗，以及双蒸水浸洗，各 5 min。TUNEL 实验按照试剂盒说明说进行操作。之后荧光显微镜下随机选取 30 个视野，观察肝脏组织中 TUNEL 阳性细胞数，计算肝细胞

TUNEL 阳性细胞比例，并进行统计。

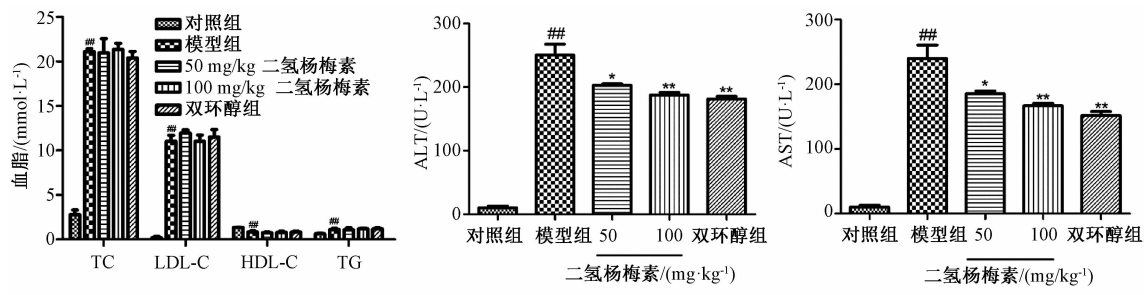
1.2.7 免疫组织化学 取出肝脏，生理盐水清洗干净后进行石蜡切片，厚度 3 μm。将切好的组织通过二甲苯、不同体积分数乙醇浸洗脱蜡后，用 Bcl-2、Caspase-3 进行免疫组化染色。随后摄取图像，并通过 Image Pro-Plus software 6.0 软件统计。

1.2.8 Western blot 肝脏组织通过组织蛋白抽提剂与 0.1 mmol/L 蛋白酶抑制剂冰浴裂解后，蛋白浓度通过 Bio-Rad DC 蛋白定量试剂盒检测。按照说明书进行 Western blot、ECL 曝光显影。通过 Gel Pro software 进行条带分析。

1.2.9 数据统计 全部数据用 SPSS 12.0 分析，实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组间数据的比较用单因素方差分析（one-way ANOVA）检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 二氢杨梅素对高脂诱导 ApoE^{-/-}小鼠血脂及肝损伤酶的影响 本实验检测了二氢杨梅素对小鼠血脂四项水平的影响，实验结果表明，与对照组相比，模型组中 TG、TC 和 LDL-C 水平表达明显上升，而 HDL-C 明显下降（ $P < 0.01$ ）；而二氢杨梅素对血脂四项的没有显著的调控作用。ALT 和 AST 的水平是评价肝脏损伤的一个重要指标^[11]。为了评价二氢杨梅素对于其表达的影响，本实验检测了血清中 AST 和 ALT 水平。如图 1，与对照组相比，模型组中肝损伤酶的表达显著增加（ $P < 0.01$ ）；二氢杨梅素低、高剂量均能显著性降低 AST 和 ALT 的表达（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。表明二氢杨梅素能够减少高脂饲料诱导的肝脏损伤。



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

图 1 二氢杨梅素对高脂诱导 ApoE^{-/-}小鼠肝损伤酶的影响（ $n = 10$ ）

Fig. 1 Effects of DHM on liver injury enzymes expression in HFD-induced ApoE^{-/-}NAFLD mice ($n = 10$)

2.2 二氢杨梅素对高脂诱导 ApoE^{-/-}小鼠肝脏组织学及脂肪变性的影响 肝脏脂肪变性是脂肪肝形成的病理性特征。HE 实验结果表明，对照组中肝细胞大小均匀，排列整齐，肝小叶清晰可见；模型

组中肝细胞内脂肪浸润明显，可见大小不等的脂肪空泡；而给药组能够明显改善肝脏的脂肪变性。进一步油红 O 染色，证实了该结论（图 2）。治疗组与模型组的比较结果提示二氢杨梅素能够降低肝脏

脂肪变性，从而起到保护作用。

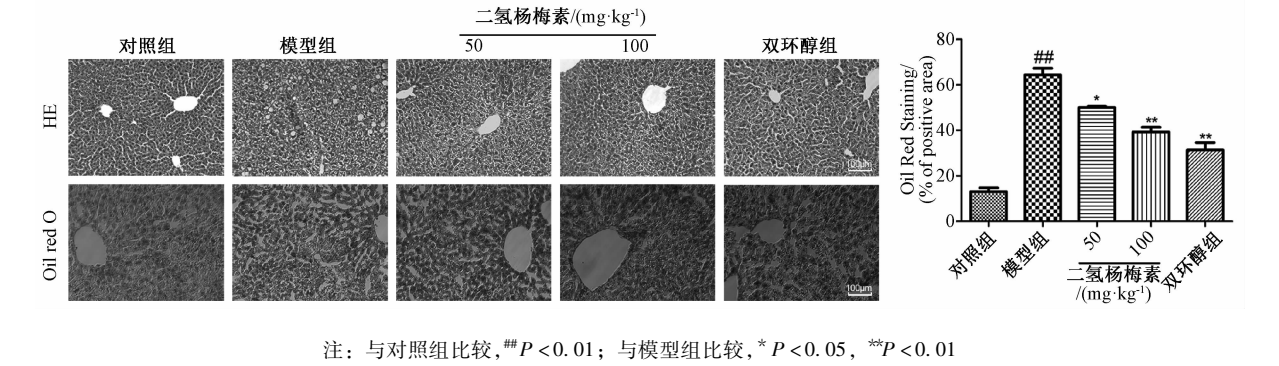


图 2 二氢杨梅素对高脂诱导 ApoE^{-/-}小鼠肝脏组织学及脂肪变性的影响 (×200, n=10)

Fig. 2 Effects of DHM on liver injury and hepatic steatosis in HFD-induced ApoE^{-/-} NAFLD mice (×200, n=10)

2.3 二氢杨梅素对高脂诱导 ApoE^{-/-}小鼠肝脏组织氧化酶表达的影响 实验结果表明 (图 3), 与对照组相比, 模型组中 CAT 和 SOD 表达显著下调 ($P <$

0.01), 而 MDA 表达显著上调 ($P <$ 0.01)。给予二氢杨梅素后能够明显上调抗氧化 CAT 和 SOD 的表达, 下调 MDA 的表达 ($P <$ 0.05, $P <$ 0.01)。

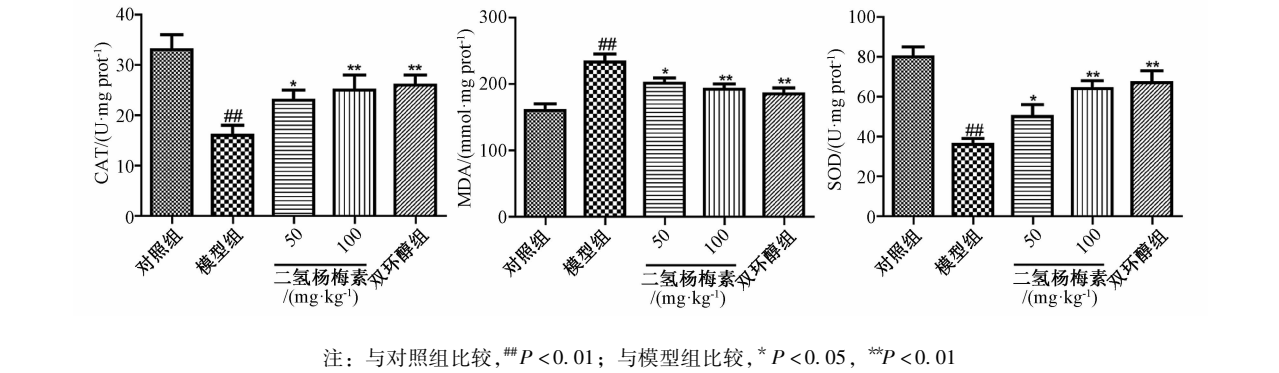


图 3 二氢杨梅素对高脂诱导 ApoE^{-/-}小鼠肝脏组织氧化酶表达的影响 (n=10)

Fig. 3 Effects of DHM on liver oxidative enzymes expression in HFD-induced ApoE^{-/-} NAFLD mice (n=10)

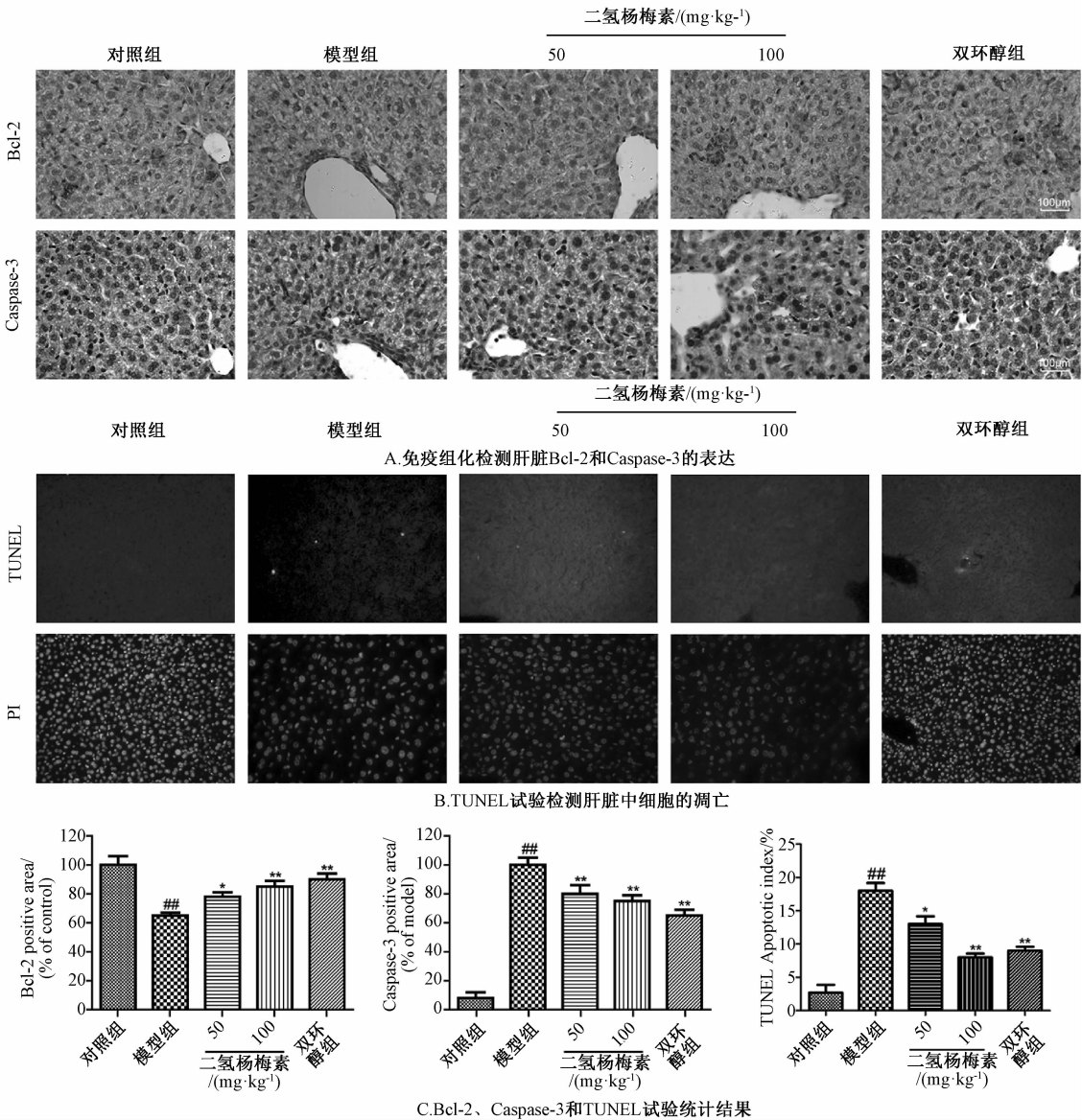
2.4 二氢杨梅素能够减少肝细胞的凋亡 通过免疫组化检测了肝脏组织中凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Caspase-3 的表达情况, 如图 4A、4C 所示, 结果表明二氢杨梅素能够显著降低促凋亡蛋白 Caspase-3 的表达和上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达 ($P <$ 0.01)。通过 TUNEL 试验检测肝细胞的凋亡。如图 4B ~ C 所示, 与对照组相比, 模型组中绿色荧光显著增强, 表明 TUNEL 阳性细胞数显著增加; 与模型组相比较, 二氢杨梅素能够显著降低 TUNEL 阳性细胞数 ($P <$ 0.05, $P <$ 0.01)。以上的结果证明, 二氢杨梅素能够减少肝脏细胞的凋亡。

能够显著下调 p-AMPK 的表达 ($P <$ 0.01)。

2.5 二氢杨梅素对肝脏组织 AMPK 磷酸化水平的影响 AMPK 参与了细胞凋亡、增殖的调控, 为了进一步探讨二氢杨梅素的保护作用机制, 本实验通过 Western 检测了 AMPK 的磷酸化水平。如图 5 所示, 长期高脂饲养 ApoE^{-/-}小鼠肝脏 AMPK 磷酸化水平显著高于对照组 ($P <$ 0.01), 而二氢杨梅素

3 讨论

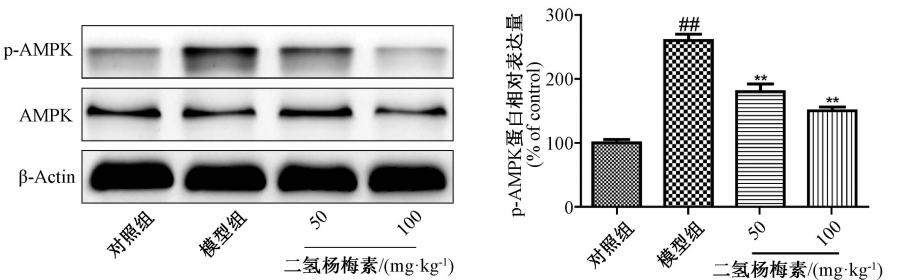
“二次打击”学说是目前广泛接受的非酒精性脂肪肝形成机制的假说^[12]。第一次打击主要包括脂肪的堆积, 第二次打击主要是指氧化损伤以及肝细胞凋亡。目前中西医治疗 NAFLD 主要包括降脂、保肝和抗氧化等方面, 但都缺乏比较有效的手段^[13-14]。而通过药物干预 NAFLD 模型小鼠对发现防治 NAFLD 药物具有针对性和可靠性。本研究通过 ApoE^{-/-}小鼠高脂饲料喂养, 成功复制了 ApoE^{-/-}小鼠 NAFLD 模型, 此模型具有高脂血症、血清转氨酶升高的典型 NAFLD 代谢特征。已有研究表明二氢杨梅素具有较强的保护内皮细胞氧化损伤、保护心肌损伤、肝脏损伤^[15-16]。本研究中发现二氢杨梅素对高脂诱导的 ApoE^{-/-}小鼠血脂四项水平的表达没有显著性的调控作用。同时还发现二氢杨梅素能够减少肝脏脂肪变性, 调节肝组织抗氧化酶的



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

图 4 二氢杨梅素能够减少肝细胞凋亡相关蛋白的表达以及 TUNEL 阳性细胞 (× 200 , *n* = 10)

Fig. 4 DHM prevents hepatic cell apoptosis in HFD-induced ApoE^{-/-} NAFLD mice (× 200 , *n* = 10)



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

图 5 二氢杨梅素对肝脏组织 AMPK 磷酸化水平的影响 (*n* = 10)

Fig. 5 Effects of DHM on liver AMPK phosphorylation in HFD-induced ApoE^{-/-} NAFLD mice (*n* = 10)

表达,降低肝脏细胞的凋亡。ALT 和 AST 在评价肝脏功能、判断肝损伤中具有重要意义。本实验结果表明二氢杨梅素能够显著降低 ALT 以及 AST 水平,上调抗氧化酶、下调促氧化酶的表达,提示其保护高脂诱导的肝脏损伤与其调控血脂四项水平无关,而与其抗氧化损伤有关。同时在改善肝脏的病理学时,发现二氢杨梅素高剂量组和低剂量组均有较好的作用。脂毒性包括脂质异常沉积和诱导肝细胞凋亡。活性 AMPK 是细胞中调节脂质的重要因素,它能够通过感知细胞内能量变化进而发挥作用,一方面可以提高线粒体代谢功能、使能量利用增加,另一方面又能够抑制脂肪合成,增加脂肪酸氧化,进而减少肝脏内脂质含量,在 NAFLD 的发生发展中起着重要的调控作用,同时与抗肝细胞凋亡密切相关^[17-18]。本实验证明,二氢杨梅素可以提高 AMPK 磷酸化水平,从而发挥改善脂质代谢异常和抗肝细胞凋亡的作用。文献报道显示,肝细胞凋亡程度可直接反应肝脏损伤程度,而 Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白水平可反应细胞的凋亡情况^[19],本实验结果显示,二氢杨梅素可上调 Bcl-2 水平和下调 Caspase-3 蛋白水平,TUNEL 检测也证实了其抗凋亡作用。

综上所述,二氢杨梅素可通过提高 AMPK 磷酸化水平以及减少肝细胞凋亡保护高脂饲料诱导的肝脏脂肪变性和肝氧化损伤,为进一步深入机制研究提供了实验基础。因此,二氢杨梅素可能成为预防慢性脂代谢病的潜在药物,而其临床应用还需进一步研究。

参考文献:

[1] Carr R M, Oranu A, Khungar V. Nonalcoholic fatty liver disease: pathophysiology and management[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2016, 45(4): 639-652.

[2] Sun B, Karin M. Obesity, inflammation, and liver cancer[J]. *J Hepatol*, 2012, 56(3): 704-713.

[3] Federico A, Dallio M, Masarone M, *et al.* The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease and its connection with cardiovascular disease: role of endothelial dysfunction[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(22): 4731-4741.

[4] Liang S, Cheng X, Hu Y, *et al.* Insulin-like growth factor 1 and metabolic parameters are associated with nonalcoholic fatty liver disease in obese children and adolescents[J]. *Acta Paediatr*, 2017, 106(2): 298-303.

[5] Michelotti G A, Machado M V, Diehl A M. NAFLD, NASH and liver cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10(11): 656-665.

[6] Grander C, Grabherr F, Moschen A R, *et al.* Non-alcoholic

fatty liver disease: cause or effect of metabolic syndrome[J]. *Visc Med*, 2016, 32(5): 329-334.

[7] Haghighatdoost F, Salehi-Abargouei A, Surkan P J, *et al.* The effects of low carbohydrate diets on liver function tests in nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis of clinical trials[J]. *J Res Med Sci*, 2016, 21: 53.

[8] Chen S, Zhao X, Wan J, *et al.* Dihydromyricetin improves glucose and lipid metabolism and exerts anti-inflammatory effects in nonalcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial[J]. *Pharmacol Res*, 2015, 99: 74-81.

[9] Ji F J, Tian X F, Liu X W, *et al.* Dihydromyricetin induces cell apoptosis via a p53-related pathway in AGS human gastric cancer cells [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14 (4): 15564-15571.

[10] Chen Y, Lü L, Pi H, *et al.* Dihydromyricetin protects against liver ischemia/reperfusion induced apoptosis via activation of FOXO3a-mediated autophagy[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(47): 76508-76522.

[11] El-Lakkany N M, Seif E S, Sabra A A, *et al.* Co-administration of metformin and N-acetylcysteine with dietary control improves the biochemical and histological manifestations in rats with non-alcoholic fatty liver[J]. *Res Pharm Sci*, 2016, 11(5): 374-382.

[12] Karim M F, Al-Mahtab M, Rahman S, *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) —a review[J]. *Mymensingh Med J*, 2015, 24(4): 873-880.

[13] Yao H, Qiao Y J, Zhao Y L, *et al.* Herbal medicines and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(30): 6890-6905.

[14] Del B M, Baratta F, Polimeni L, *et al.* Under-prescription of statins in patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2017, 27(2): 161-167.

[15] Hou X, Tong Q, Wang W, *et al.* Dihydromyricetin protects endothelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress damage by regulating mitochondrial pathways [J]. *Life Sci*, 2015, 130: 38-46.

[16] Meng G, Yang S, Chen Y, *et al.* Attenuating effects of dihydromyricetin on angiotensin II-induced rat cardiomyocyte hypertrophy related to antioxidative activity in a NO-dependent manner[J]. *Pharm Biol*, 2015, 53(6): 904-912.

[17] Rutherford C, Speirs C, Williams J J, *et al.* Phosphorylation of Janus kinase 1 (JAK1) by AMP-activated protein kinase (AMPK) links energy sensing to anti-inflammatory signaling [J]. *Sci Signal*, 2016, 9(453): a109.

[18] Lee S G, Wu H M, Lee C G, *et al.* Binge alcohol intake after hypergravity stress sustainably decreases AMPK and transcription factors necessary for hepatocyte survival[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2017, 41(1): 76-86.

[19] Schneck A S, Anty R, Patouraux S, *et al.* Roux-En Y Gastric bypass results in long-term remission of hepatocyte apoptosis and hepatic histological features of non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Front Physiol*, 2016, 7: 344.