

Leptin 受体在实验性脂肪肝及肝硬化中的基因表达情况

刘 华¹, 卫俊杰², 陈瑞春¹, 苏艳丹^{1△} (1. 昆明医学院第一附属医院检验科 650032; 2. 云南省中医院检验科, 昆明 650031)

【摘要】目的 观察 Leptin 受体(Ob-R)在实验性脂肪肝与肝硬化大鼠中肝脏 mRNA 的表达情况,探讨 Ob-R 在实验性脂肪肝与肝硬化发生和发展中的作用。**方法** (1)建立实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(FQ RT-PCR)技术检测 Ob-R 的 mRNA 表达水平的方法及标准曲线;(2)采用 FQ RT-PCR 检测非酒精性脂肪肝组、肝硬化组及对照组中 Ob-R 的 mRNA 表达水平,从定量的角度研究 Ob-R 及 Ob-R mRNA 与非酒精性脂肪肝和肝硬化的关系以及它们二者的关系,以探讨表达与非酒精性脂肪肝、肝硬化的相关性及其在实验性脂肪肝与肝硬化发生和发展中的作用。**结果** 非酒精性脂肪肝组、肝硬化组 and 对照组均有 Ob-R 的 mRNA 表达,三者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** Ob-R 的 mRNA 在非酒精性脂肪肝、肝硬化和对照组中均有表达,但其可能在脂肪肝和肝硬化的发生和发展中并没有起到直接作用,可能还有其他因子的共同参与。提示 Ob-R 可能参与了肝脂肪变性形成,促进肝纤维化的发生。

【关键词】 Leptin 受体; 脂肪肝; 肝硬化; 实时荧光定量聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.09.014 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)09-1048-03

Research on the expression of Leptin receptors gene in experimental fatty liver and cirrhosis of liver LIU Hua¹, WEI Jun-jie², CHEN Rui-chun¹, SU Yan-dan^{1△} (1. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Kunming Medicinal Academy, Kunming, Yunnan 650032, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Yunnan Tradition Chinese Medicine, Kunming, Yunnan 650031, China)

【Abstract】Objective To observe the expression of the Leptin receptors gene in experimental fatty liver and cirrhosis liver, and to discuss the possible mechanisms of Ob-R in experimental fatty liver and cirrhosis liver. **Methods** 1. We established a method of fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction(FQ RT-PCR) to test the expression level of mRNA of Leptin receptors(Ob-R) and its standard curve. 2. The message RNA (mRNA) expression levels were measured by the FQ RT-PCR method and compared quantitatively between non-alcoholic fatty liver(NAFL) model, cirrhosis liver model and the control group. **Results** The mRNA levels of Leptin receptors gene increased in the liver of experimental NAFL and cirrhosis liver. There was no significant difference between the mRNA levels of Leptin receptors gene in the NAFL group, cirrhosis liver group and control group($P > 0.05$). **Conclusion** The mRNA levels of Leptin receptors gene were all expressed in NAFL and cirrhosis liver and the control group. This data do not support a role for leptin receptor in the pathogenesis of NAFL and cirrhosis liver. These observations proved Leptin receptors might appear to promote pro-fibrogenic responses in the liver. Our study results not only provide experimental basis for us to research the mechanisms of fatty liver and cirrhosis liver, but also establish the theoretical foundation to prevent and treat all types of hepatic injury.

【Key words】 Leptin receptors; fatty liver; cirrhosis of liver; RT-PCR

脂肪肝是指由各种原因引起的肝细胞脂肪变性,患者往往表现为肝功能异常,部分还可能发展成为肝炎、肝纤维化和肝硬化等。在西方国家,乙醇中毒是造成脂肪肝的主要诱因之一。近年来的研究发现,非乙醇中毒者也可因饮食等原因诱发脂肪肝,即非酒精性脂肪肝。随着我国老龄化人口增加,人们饮食结构的西化,脂肪肝的发病率逐年增长,其中患者多属非酒精性脂肪肝。

非酒精性脂肪肝、肝硬化的发病机制及病理生理变化相当复杂,故是当前肝脏疾病研究的热点和难点。Leptin 是近年来才发现的细胞因子,它是由脂肪细胞分泌的蛋白质类激素,是一种脂肪组织源激素,具有广泛的生物学效应,其中较主要的是作用于下丘脑的代谢调节中枢,发挥抑制食欲,减少能量摄取,增加能量消耗,抑制脂肪合成的作用^[1]。Leptin 和其他激素一样,需要和特异的受体结合才能发挥作用。人类 Leptin 受体基因(肥胖基因 Ob-R)位于 1p31,由 20 个外显子和 19 个

内含子组成,属于 I 型细胞因子受体家族,是单一跨膜信号转导复合物。由以下 3 个位点组成:(1)细胞外位点;(2)跨膜位点;(3)多变的细胞内位点。根据细胞内位点的不同又把 Ob-R 分为两大类:长受体(Ob-Rb)和短受体。有研究表明,肝脏表面存在着丰富的 Ob-R,而利用大鼠脂肪肝模型、肝硬化模型对比研究 Ob-R 的 mRNA 表达水平,国内外报道较少,因此 Ob-R 与肝脏疾病的关系仍值得深入研究。

本文建立并运用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(FQ RT-PCR)技术检测 Ob-R 的 mRNA 表达水平的方法及标准曲线,检测了两组动物实验模型(高脂血症脂肪肝模型与硫代乙酰胺致肝硬化模型)肝细胞中 Ob-R 的 mRNA 表达情况,从而为研究非酒精性脂肪肝与肝硬化的发生和发展奠定一定的实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性 Sprague-Dawley 大鼠(SD 大鼠)50 只,

△ 通讯作者, E-mail:lh197306@sohu.com。

4~6 周龄, 体质量 160~210 g, 购自昆明医学院动物实验中心。

1.2 主要试剂 硫代乙酰胺(分析纯, 上海凌峰化学试剂公司生产); 胆固醇(分析纯, 上海源聚生物科技有限公司生产); 猪油(昆明市售食用板油炼制); 组织总 RNA 抽提试剂盒及焦碳酸二乙酯(DEPC)购自上海华舜生物工程有限公司产品; cDNA 合成试剂盒(加拿大富酶泰斯公司产品); Taq DNA 聚合酶(华美生物工程有限公司产品); OB-R 受体标准品、引物及探针序列(由英骏生物技术有限公司设计及合成; OB-R 序列来源于 GENE BANK(编号 NM 012596), OB-R 探针和上、下游引物序列如下: 上游引物是 5' TGC CAG TGT CAG ATC TCT GT; 下游引物是 5' CAA GAG TGT AGG CTG GAC TG; 探针序列是 CTA TGT GGT ACA GGT TCG CTG CCG G, 扩增片段长度为 105 bp。

1.3 主要仪器 GNP-9080 型隔水式恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司产品); Maxi4 恒温培养箱(美国 Thermo Hybaid 公司产品); GL-200 型紫外透射反射分析仪(北京 Bio Photometer 公司产品); ABI7300 自动荧光 PCR 仪(美国 ABI 公司产品); 所用一次性加样枪头和 EP 管均事先用 DEPC 水处理, 高温高压灭菌及灭活 DEPC 后使用。

1.4 实验方法

1.4.1 高脂饲料的制备 参照文献[2-3]略加以改进, 配制含普通饲料加 20 g/kg 胆固醇加 100 g/kg 猪油。

1.4.2 动物模型建立及用药方法 雄性 SD 大鼠 50 只随机分为 3 组, 对照组($n=10$)、脂肪肝组($n=20$)、肝硬化组($n=20$)。脂肪肝组喂高脂饲料, 每天 2 次, 共计 12 周。肝硬化组按照参考文献[4-5]的方法略加改进制作肝硬化模型: 以 10% 硫代乙酰胺(TAA)溶液腹腔内注射, 首次剂量按 200 mg/kg 给药, 以后每周给药 2 次(逢周一、五给药), 每次按 150 mg/kg 给药, 共计 12 周。4 周开始随机择一处死, 取肝脏组织镜检以观察脂肪肝或肝硬化是否形成, 共处死脂肪肝组 3 只, 肝硬化组 3 只。对照组大鼠给予腹腔内注射生理盐水 20 mL/kg, 给药模式同肝硬化组。3 组大鼠均自由普通饮水, 温度、湿度适当, 昼夜比 12:12, 除脂肪肝组外其余两组每天普通饲料分 2 次供给。全部大鼠造模成功 12 周后处死。

1.4.3 取材 大鼠经乙醚呼吸麻醉后立即取出新鲜肝脏组织, 并切除肝右叶迅速放入冻存管, 置入液氮罐中 1 min, 然后保存于 -80 °C 冰箱中保存, 待实验用。

1.4.4 苏木精-伊红(HE)染色 取部分肝组织进行石蜡包埋待病理染色用。

1.4.5 肝脏 OB-R 经 FQ RT-PCR 技术检测肝组织 OB-R 的 mRNA 的表达水平: (1)用电子天平称 30 mg 肝脏组织, 用总 RNA 抽提试剂盒提供的步骤和试剂提取总 RNA。(2)用 ep-endorf 紫外分光光度计测量其总 RNA 浓度并估算其纯度, 波长 260 nm 与 280 nm 处的吸光度(OD)比值接近 2.0 者, 浓度大于 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 者视为提取成功, 加以记录并保存总 RNA 于 -70 °C。(3)一步法扩增合成 cDNA 片断。根据之前测量的浓度每份样本均取 0.5 μg 的总 RNA; 利用逆转录试剂盒提供的步骤和试剂, 逆转录总 RNA 合成 cDNA 存于 -20 °C 冰箱。(4)PCR 扩增反应如下: ①PCR 扩增反应体系为 10 $\times$ PCR Buffer 5 μL ; MgCl_2 (25 mmol/L) 3 μL ; dNTP (2.5 mmol/L) 4 μL ; Taq 酶 (5 U/L) 0.4 μL ; Probe 探针 (10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL ; 上下游引物 (20 $\mu\text{mol/L}$) 各 1 μL ; cDNA 2 μL ; 双蒸水 32.6 μL , 总体积 50 μL 。②PCR 扩增反应条件为预变性 94 °C 5 min; 变性 94 °C 45 s $\rightarrow$ 退火 58 °C 45 s $\rightarrow$ 延伸 72 °C 45 s, 共 40 个循

环; 72 °C 5 min。③记录并保存扩增曲线。

1.4.6 PCR 扩增产物的检测 FQRT-PCR 测定样品 OB-R 的量根据双链 DNA 片段的摩尔质量 = 碱基对的数量(bp) $\times$ (660 Da/bp), 计算得标准品相对分子质量约为 69 300 $\times 10^3$, 即 69 300 g/mol, 又用紫外分光光度计测得该 DNA 的 OD260 值, 测得其质量约为 49.5 ng/ μL , 结合相对分子质量和阿弗加德罗常数计算后先将标准品稀释为 1 010, 然后将 OB-R 标准品 (1 010 个拷贝数) 倍比稀释成 10^8 、 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 拷贝数, 以 10^6 、 10^5 、 10^4 为模板用与样本相同体系和反应条件扩增, 制备标准曲线, 记录并保存扩增曲线。

1.4.7 利用建立起来的标准曲线将所有的样本定出 OB-R 拷贝数。

1.5 统计学方法 实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。应用 SPSS11.0 社会科学统计软件包。计量资料多组间比较用单因素方差分析, 多重比较检验采用 LSD 法(最小显著差法)。计数资料采用非参数检验的秩和检验(Kruskal Wallis Test); 回归分析采用多元线性回归分析。

2 结 果

2.1 动物模型建立 12 周时成功建立脂肪肝、肝硬化模型。共得脂肪肝大鼠 15 只(因造模观察剖杀 3 只, 自然死亡 2 只), 肝硬化组大鼠 13 只(因造模观察剖杀 3 只, 自然死亡 4 只), 对照组大鼠 10 只(无死亡)。大鼠活体观察: 对照组大鼠毛发光滑、整齐、有光泽, 不易脱落, 尿色淡黄, 体质量有所增加, 活动自如, 精神状态佳; 脂肪肝组大鼠毛色发暗, 倒毛, 不光洁, 体质量增加, 尿色淡黄, 活动较少, 精神较差; 肝硬化组大鼠毛发蓬乱、稀疏, 易脱落, 不光洁, 尿色深黄, 体质量增加, 活动减少, 精神萎靡。HE 染色结果见图 1、2、3。

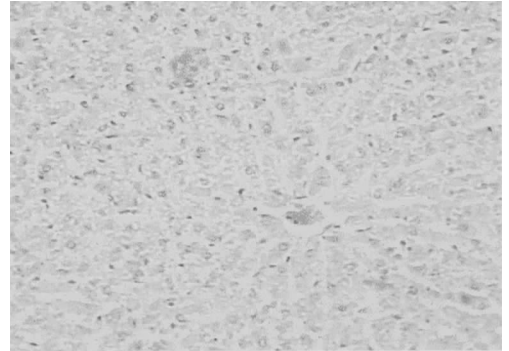


图 1 $\times 200$ 对照组肝脏 HE 染色

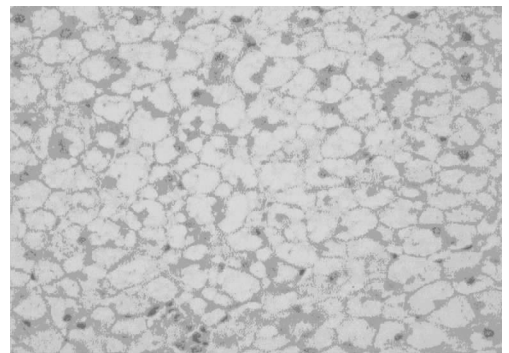


图 2 $\times 200$ 脂肪肝组肝脏 HE 染色

2.2 FQ RT-PCR 检测结果

2.2.1 OB-R 的标准曲线制定 通过 Ct 值即每个反应管中的荧光信号到达设定的阈值时所用的循环数来定量。 $10^4 \sim 10^6$ 标准品 DNA 模板的 Ct 值分别为 25.98、20.15 和 18.52(见图

4)。其相关系数(r)=0.999 801,斜率(K)=-3.585,截距(b)=48.398(见图 5),从而得出其标准曲线方程为 $Ct = -3.585 \log[C_0] + 48.398$ 。利用已知起始浓度的标准品做出标准曲线,根据未知样品的 C_t 值,即可从标准曲线上看出该样品的起始 DNA 水平。

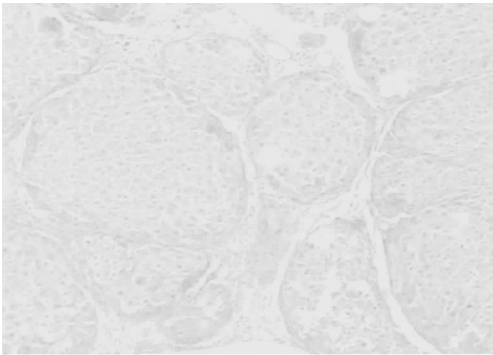


图 3 ×400 肝硬化组肝脏 HE 染色

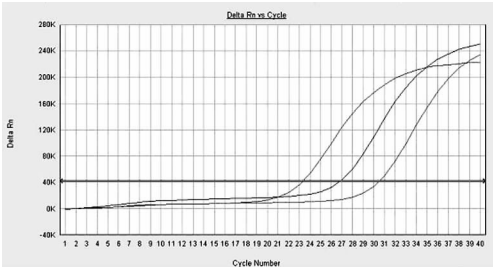
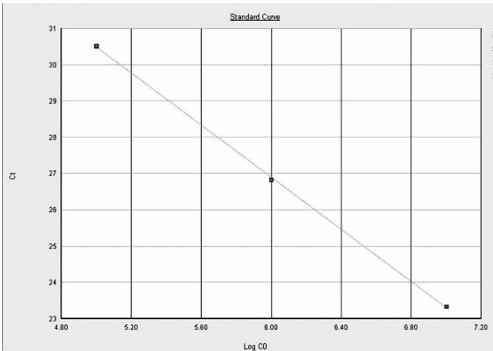


图 4 标准品实时荧光扩增曲线



$K = -3.585, b = 48.398, r = 0.999\ 801$ 。

图 5 标准品荧光扩增标准曲线

2.2.2 实验性非酒精性脂肪肝、肝硬化和对照组大鼠的实时荧光定量扩增曲线经过 FQ RT-PCR 方法检测 38 只实验性脂肪肝、肝硬化和对照组 SD 雄性大鼠均得到阳性扩增(见图 6)。

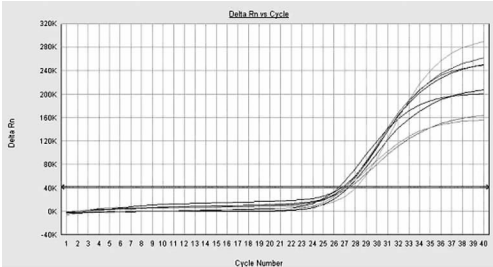


图 6 3 组大鼠的实时荧光定量扩增曲线

2.2.3 实验性脂肪肝、肝硬化和对照组大鼠的 OB-R 拷贝数分析结果见表 1。造模成功后 3 组大鼠 OB-R 的秩次比较分别是:对照组 19.44,脂肪肝组 19.6,肝硬化组 18.00。经 χ^2 检

验,3 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 造模成功后 3 组大鼠的 OB-R 拷贝数均数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	OB-R($\times 10^4$)
对照组	10	6.11±3.94
脂肪肝组	15	5.60±2.67
肝硬化组	13	5.32±3.54

3 讨 论

目前主要有 4 种类似的探针:(1)分子信标技术;(2)LightCycler 技术;(3)TaqMan 双标记探针技术;(4)Amplisensor 探针技术。其中以 TaqMan 探针的实时荧光技术比较成熟,合成相对简易,合成成本低,PCR 扩增的特异性和效率也较好,故本研究选用它作为检测实验的荧光技术^[6]。

FQ-PCR 与以往的定量 PCR 监测相比,具有以下优点:(1)特异性强,灵敏度高,精确性高;(2)全封闭反应,无需 PCR 预后处理,避免污染;(3)摒弃了受多因素干扰的终点分析法,使定量更准确可靠;(4)实时荧光检测,结果客观又直观;(5)实现了单管双检或多检,还可设计内标,监控模板抽提效率并排除抑制干扰;(6)操作安全,省时高效;(7)有利于规模化、自动化及联网管理;(8)适用范围广,可检测所有特异性遗传信息(DNA 或 RNA)等。

实时荧光定量的方法很多,目前多采用的是相对定量法,计算较为繁琐,且只能组间比较;因而作者尝试建立了绝对定量的方法,委托试剂公司制成标准品,再利用标准品制成标准曲线,用回归方程计算 cDNA 的量,增加了结果的可比性、可靠性及可重复性,具有一定的可实施性。且该方法简便,只需进行一次 DNA 的扩增即可进行比较。类似基因表达水平进行定量的研究,提供了一条新的思路。

PCR 技术由于具有高敏感性,往往出现污染问题,作者在实验过程中充分考虑到该问题,首先是根据卫生部对 PCR 实验室的要求对实验室进行合理分区,实验用器械均专室专用,实验室具备完整的防污染规章制度,并且获得了卫生部技术验收合格证书。检测过程中设立了阴性对照,证明实验过程中无污染。

OB-R 的主要生理功能是与瘦素结合,使瘦素发挥调节体内的能量平衡、脂肪贮存等生理作用,且参与瘦素的自身分泌调节,并参与瘦素的除调节能量外的其他方面(如代谢、生殖、造血等)的功能。OB-R 的不同剪接体在中枢及外周组织中有选择地表达,瘦素与这些组织中的 OB-R 结合后具有不同的功能。OB-Ra 其首要作用是抑制机体对饥饿的应答,表现为抑制食物摄取和抵消 Y-神经肽的作用^[7],并协同食欲素及其他神经肽在中枢水平上信号的整合作用,再由下丘脑发出适于和能量调节的指令,从而维持机体正常的代谢平衡。OB-Rb 作为瘦素的高亲和力受体,通过 OB-R 的信号转导途径,而最终影响到基因的转录调节,从而发挥 Leptin 的生物学效应^[8]。

近年来的研究表明,肝脏表面存在着丰富的 OB-R,其中 OB-Rb 是 Leptin 作用的主要受体,是瘦素的高亲和力受体,其细胞内位点被认为是 Leptin 信号传递的第一步。OB-R 信号转导的主要途径是 JAK-STAT 途径,Leptin 与其受体结合后,通过激活转导子和转录激动子而最终影响到基因的转录调节,从而发挥 Leptin 的生物学效应。OB-R 在肝脏中有少量表达,其长细胞内段具有信号传导功能,并且长细胞内段与 Leptin 对代谢调节的作用具有密切的关系。国内外对 OB-R 在肝纤维化和脂肪肝中的肝脏 mRNA 表达的研究不多,而同时利用大鼠肝硬化模型和脂肪肝模型研究 OB-R mRNA(下转第 1052 页)

mmol/L 下调到 5.6 mmol/L^[2],2006 年 WHO 专家组经过讨论认为:确定切点应该从临床和公共卫生方面考虑,而不能只考虑统计学结果;降低切点会引起 IFG 发生率显著增长,从而对个体危险预测和公共卫生系统造成显著影响;在预防不良转归或进展为 DM 方面,无证据显示降低切点有益,决定仍坚持 WHO 的 IFG 标准。

在 2007 年 FPG 处于 5.6~6.0 mmol/L 的 525 例中,2009 年有 106 例达到 IFG 6.1~6.9 mmol/L、20 例达到糖尿病 FPG 诊断标准,分别占 2009 年达到 IFG 6.1~6.9 mmol/L、FPG≥7.0 mmol/L 例数的 57.3%,34.5%。如果能对 FPG 处于 5.6~6.0 mmol/L 的人群及早进行生活方式干预^[4-5],改善肥胖、血压及血脂等代谢异常,从而改善胰岛素抵抗^[6],有可能控制其 FPG 水平,降低 IFG 和 DM 发生的风险^[7]。体检医院一般对受检者的异常结果才给出体检建议或进行适当干预,有可能引起受检者的重视,关注自己的 FPG;如果按 WHO 的标准(6.1 mmol/L)作为正常血糖上限切点,将有可能将这部分人群漏检,从而达不到以健康体检了解受检者健康状况、早期发现疾病线索和健康隐患的目的。作者认为,IFG 下限切点调至 5.6 mmol/L 在本地区健康体检中应用是可行的。

鉴于 FPG 6.1~6.9 mmol/L 的 IFG 与 DM 关系的强度要高于 FPG 5.6~6.0 mmol/L 的 IFG,人们对其认知的程度不同,并且目前正常血糖的上限仍使用 WHO 标准(6.1 mmol/L),所以要关注 FPG 处于 5.6~6.0 mmol/L 的人群,提高该类人群对自己 FPG 水平的认识,引起他们关注自己的 FPG 变化,意识到可能存在的 DM 患病风险^[8]。

本次参检人群是以 2 年为间隔时间进行健康体检的,如果适当减少体检的时间间隔,更早发现 FPG 的异常,可能对参检人员的身体健康更为有利。

(上接第 1050 页)

的基因表达,国内外报道较少。本课题研究发现;非酒精性脂肪肝组、肝硬化组和对照组 SD 大鼠 OB-R 的 mRNA 在大鼠肝脏组织均有表达,但是在三者间差异无统计学意义,这与国内外报道基本一致^[9-12]。

综上所述,OB-R 在脂肪肝和肝硬化的发病中可能并没有起到直接作用,而是通过其他途径发挥其调节能量代谢和体质量调节的作用。目前关于 OB-R 详尽的信号机制尚不能详尽解释,尚需进一步的研究。

参考文献

[1] Pelleymounter MA, Cullen J, Baker MB, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice[J]. Science, 1995, 269(5223): 540-543.

[2] 钟岚, 范建高, 王国良, 等. 肥胖、高脂血症性脂肪性肝炎模型的建立[J]. 实验动物科学与管理, 2000, 17(2): 16-20.

[3] 张惠清, 钟明康, 张洁, 等. 鼠肝细胞损伤与细胞间黏附分子-1 表达的关系[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2009, 29(5): 517-520.

[4] Torres MI, Fernandez MI, Gil A, et al. Dietary nucleotides have cytoprotective properties in rat liver damaged by thioacetamide[J]. Life Sci, 1998, 62(1): 13-22.

[5] Dashti H, Jeppsson B, Haggerstrand I, et al. Thioacet-

参考文献

[1] Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. The report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. Diabetes Care, 1997, 20(7): 1183-1197.

[2] The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus[J]. Diabetes Care, 2003, 26(11): 3160-3167.

[3] Borch-Johnsen K, Colagiuri S, Balkau B, et al. Creating a pandemic of prediabetes: the proposed new diagnostic criteria for impaired fasting glycaemia [J]. Diabetologia, 2004, 47(8): 1396-1402.

[4] 邵海琳. 空腹血糖受损的研究进展[J]. 临床荟萃, 2008, 23(16): 1208-1210.

[5] 邱昕光, 严红, 胡玉冰, 等. 1 550 老年人空腹血糖受损患病率调查[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(24): 3270-3271.

[6] 卢艳慧, 陆菊明, 王淑玉, 等. 糖调节受损人群健康教育一年后转为正常血糖者的影响因素研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2007, 23(5): 429-430.

[7] 邱昕光, 严红, 胡玉冰, 等. 空腹血糖受损切点下调后糖调节受损状况调查[J]. 中国健康管理学杂志, 2009, 3(1): 26-28.

[8] 谭燮文, 李力, 黄康民, 等. 106 260 例广州体检人群空腹血糖受损和糖尿病患病率变化趋势[J]. 中国糖尿病杂志, 2008, 16(3): 169-171.

(收稿日期: 2010-12-05)

amide and carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis[J]. Eur Surg Res, 1989, 21(2): 83-91.

[6] 张英兰, 魏让, 石红梅, 等. 乳腺癌转移抑制因子 1 在乳腺癌中的表达及其与雌激素孕激素受体的相关性[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(16): 961-963.

[7] Dotsch J, Amelmann M, Englaro P, et al. Relation of leptin and neuropeptide Y in human blood and cerebrospinal fluid[J]. J Neurol Sci, 1997, 151: 185-188.

[8] Myers MG Jr. Leptin receptor signaling and regulation of mammalian physiology[J]. Recent Prog Horm Res, 2004, 59: 287-304.

[9] 屈文东, 黄华, 柳利明, 等. 实验性脂肪肝中瘦素及其受体的检测与表达意义[J]. 肝脏, 2006, 11(2): 117-119.

[10] 屈文东, 柳利明, 黄华, 等. 实验性肝硬化中 Leptin 及其受体的检测与表达意义[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2005, 14(5): 483-486.

[11] Qiyu G, Yan G, Lin C. Effects of free fatty acid on gene expression and protein tyrosine phosphorylation of leptin-receptor in rats[J]. Bull Acad Med Sci, 2001, 25(2): 115-118.

[12] Chalasani N, Crabb DW. Does leptin play a role in the pathogenesis of human nonalcoholic steatohepatitis[J]. Am J Gastroenterol, 2003, 98: 2771-2776.

(收稿日期: 2010-12-24)