

· 基础研究 ·

有氧运动对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织雷帕霉素靶蛋白、核糖体蛋白 S6 激酶 1 和固醇调节元件结合蛋白 1c 表达的影响

朱敬生^{1,2} 吴卫东² 常波³ 任爽²

¹上海体育学院,上海 200438; ²郑州大学体育学院,郑州 450044; ³沈阳体育学院,沈阳 110102

通信作者:常波, Email: changbo8387@163.com

【摘要】 目的 观察有氧运动对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、核糖体蛋白 S6 激酶 1(S6K1)、固醇调节元件结合蛋白 1c(SREBP-1c)表达的影响。**方法** 选取健康雄性 SD 大鼠 30 只,按随机数字表法分为正常组、模型组和运动组。正常组喂食基础饲料,模型组和运动组均喂食高脂饲料,运动组大鼠进行 12 周跑台训练。3 组大鼠均于实验 12 周后取材,肝脏称重,并进行肝组织苏木精-伊红(HE)染色观察和肝组织炎症活动度评分,同时测定血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、游离脂肪酸(FFA)、谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)含量的变化,采用免疫印迹方法检测肝组织 mTOR、S6K1、SREBP-1c 蛋白的表达。**结果** 正常组大鼠肝组织形态学基本正常,肝索排列整齐,肝小叶结构完整清晰,未见脂肪变性及炎症细胞浸润;模型组大鼠可见弥漫性肝细胞脂肪变性,肝索紊乱,炎性细胞浸润;运动组大鼠肝索排列较模型组整齐,肝细胞脂滴明显减少,炎症细胞浸润减轻。运动组大鼠肝组织炎症活动度评分显著低于模型组($P<0.01$);模型组大鼠血清 TC、TG、FFA、ALT、AST 水平均显著高于正常组($P<0.01$);运动组大鼠血清 TC、TG、FFA、ALT、AST 水平均显著低于模型组($P<0.01$)。模型组大鼠肝组织 mTOR、S6K1、SREBP-1c 的蛋白表达分别(1.12 ± 0.24)、(1.34 ± 0.35)、(0.84 ± 0.12),均显著高于正常组($P<0.01$);运动组大鼠肝组织 mTOR、S6K1、SREBP-1c 的蛋白表达分别为(0.54 ± 0.18)、(0.61 ± 0.21)、(0.41 ± 0.15),均显著低于模型组($P<0.01$)。**结论** 有氧运动可以发挥防治非酒精性脂肪肝的作用,其机制可能与 mTOR/S6K1/SREBP-1c 信号通路的抑制相关。

【关键词】 有氧运动; 非酒精性脂肪肝; 雷帕霉素靶蛋白; 核糖体蛋白 S6 激酶 1; 固醇调节元件结合蛋白; 信号通路

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(15B890006)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.12.001

Aerobic exercise inhibits mTOR, S6K1 and SREBP-1c signaling in non-alcoholic fatty liver disease

Zhu Jingsheng^{1,2}, Wu Weidong², Chang Bo³, Ren Shuang²

¹Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China; ²Physical Education College of Zhengzhou University, Zhengzhou 450044, China; ³Shenyang Sport University, Shenyang 110102, China

Corresponding author: Chang Bo, Email: changbo8387@163.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of aerobic exercise on the expression of the mechanistic target of rapamycin (mTOR), S6 protein kinase 1 (S6K1) and sterol regulatory element binding protein 1c (SREBP-1c) in the liver tissues of rats modeling non-alcoholic fatty liver. **Methods** Thirty healthy male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to a normal group (N), a control group (C) or an exercise group (E). The normal group was given basic feed, while the other two groups were on a high fat diet. Group E underwent a 12-week program of treadmill running, while the other two did no special exercise. The rats' livers were then resected and weighed. Hematoxylin-eosin staining (HE) staining was applied to get a hepatic inflammation activity score. Serum total cholesterol (TG), triglyceride (TC), free fatty acid (FFA), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected, and the expressions of mTOR, S6K1 and SREBP-1c in the liver tissue were determined using western blotting. **Results** In group N the histomorphology of the livers was basically normal, with the hepatic cords neatly arranged and the hepatic lobules intact with clear structure. No macrovesicular steatosis or inflamed cell infiltration was observed. In group C there was diffuse fatty degeneration with disordered hepatic cords and inflamed cell infiltration. In group E the hepatic cords were in good order, with lipid droplets and inflamed cell infiltration significant-

ly less than in group N. The average hepatic inflammation activity score of group E was significantly lower than group C's average, while the average TC, TG, FFA, ALT and AST levels of group C were significantly higher than those of groups N and E. The average expression of mTOR, S6K1 and SREBP-1c in group C were also significantly higher.

Conclusion Aerobic exercise can help prevent and treat non-alcoholic fatty liver disease, at least in rats. Its mechanism may be related to the inhibition of the mTOR, S6K1 and SREBP-1c signaling pathways.

【Key words】 Aerobic exercise; Alcoholism; Liver disease; Rapamycin; S6 protein kinase 1; Sterol regulatory element binding protein 1c; Signaling pathways

Funding: A Henan Universities Key Scientific Research Project (15B890006)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.12.001

非酒精性脂肪肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是指排除酒精和其他明确损肝因素所致的, 以肝细胞脂肪变性和脂质沉积为特征的临床病理综合征^[1]。随着脂肪在肝内堆积, 可逐渐发展为非酒精性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatosis hepatitis, NASH), 甚至肝硬化^[2], 严重威胁人类的身体健康。有氧运动是防治非酒精性脂肪肝的有效手段之一^[3], 但有氧运动防治非酒精性脂肪肝的作用机制尚不十分清楚, 因此对其分子机制开展探讨有重要意义。

雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 参与调控蛋白和脂质合成、自噬、糖酵解和炎症在内的多种生命进程^[4]; 核糖体蛋白 S6 激酶 1 (ribosomal protein S6 kinase, polypeptide 1, S6K1) 是 mTOR 下游的一个重要效应蛋白, 参与调控细胞蛋白合成、mRNA 加工、葡萄糖的动态平衡、细胞生长和存活等过程, 研究发现, NAFLD 病理过程中, mTOR 和 S6K1 存在异常高表达^[5]; 固醇调节元件结合蛋白 1c (sterol-regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c) 与肝脏脂质代谢密切相关, 可在转录水平调节脂质合成相关酶等基因的表达, 参与 NAFLD 的发生和发展^[6]。

本研究以跑台训练为干预手段, 检测有氧运动对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝病大鼠肝脏组织 mTOR、S6K1、SREBP-1c 蛋白表达的影响, 旨在探讨有氧运动防治非酒精性脂肪肝过程中的作用机制, 以期对有氧运动防治非酒精性脂肪肝提供理论依据。

材料和方法

一、实验动物和分组

6 周龄 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠 30 只, 体重 (170±10) g, 由河南省实验动物中心提供, 动物许可证号: SCXK (豫) 2005-0001。无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 环境, 室温度 (22±2) °C。适应性饲养 7 d 后, 按随机数字表法分为正常组、模型组和运动组, 每组 10 只, 自由饮水、进食。

二、非酒精性脂肪肝病大鼠造模方案

正常组给予基础饲料, 模型组和运动组 2 组均给予高脂饲料 (胆固醇 2%, 胆酸钠 0.5%, 丙硫氧嘧啶

0.2%, 蔗糖 5%, 猪油 10%, 基础饲料 82.3%)^[7]。

三、运动方案

正常组和模型组常规饲养, 不进行运动训练。运动组大鼠于每天下午 17:00-18:00 时进行跑台运动, 参照 Bedford 运动方案^[8]: 第一周, 初始跑速 12 m/min, 坡度 0°, 每次 20 min, 隔日跑速增加 3 m/min, 每日增加时长 10 min, 第一周共训练 5 次; 第二周至第十二周, 跑速增至 18 m/min, 每次 60 min, 坡度 5°, 每周训练 5 次。

四、取材方法

运动 12 周后, 3 组大鼠禁食过夜, 用 6% 戊巴比妥钠 (0.1 ml/100 g 体重) 麻醉, 处死后摘眼球取血, 肝组织取材, 称重。部分肝组织采用 4% 多聚甲醛固定, 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 剩余部分保存于 -80 °C 冰箱, 用于 mTOR、S6K1、SREBP-1c 信号通路相关蛋白检测。

五、指标测定

1. 肝重系数 = 肝重 (g) / 体重 (g) × 100%。

2. 血清指标测定: 全血, 4000 r/min 离心 10 min, 取血清。全自动生化分析仪测定血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglycerides, TG)、游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 和谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)。

3. 病理学观察: 将经 4% 多聚甲醛固定的肝组织脱水, 石蜡包埋, 切片 (4 μm), 脱蜡, 苏木精-伊红 (Hematoxylin-eosin staining, HE) 染色, 脱水, 中性树胶封片。肝组织炎症活动度参照王泰龄等^[9]的研究对汇管区炎症、小叶内炎症、碎屑坏死和桥接坏死程度进行计分统计, 每项指标 0~4 分 (无明显汇管区炎症、小叶内炎症、碎屑坏死和桥接坏死计 0 分, 偶见计 1 分, 轻度计 2 分, 中度计 3 分, 重度计 4 分), 肝组织炎症活动度评分为四项指标累积得分。

4. Western blot 蛋白免疫印迹检测: 将剩余冷藏的肝组织从冰箱取出, 取 50 mg 肝组织匀浆, 离心 (4 °C, 12000 rpm, 30 min), 取上清液。标定蛋白浓度上样, 再经 12% 十二烷基硫酸钠——聚丙烯酰胺电泳 (sodium

dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 分离后,将目标蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜,用脱脂奶粉 (5%) 封闭。经 Tris 缓冲盐溶液-Tween20 (tris buffered saline tween, TBST) 冲洗后,加一抗。mTOR (稀释比例 1:2000, 购自 Abcam 公司)、SREBP-1c (稀释比例 1:3000, 购自 Abcam 公司)、S6K1 抗体 (稀释比例 1:1000, 购自 CST 公司), 4℃, 过夜。第 2 日, TBST 液冲洗后,加碱性磷酸酶标记的二抗 (购自北京柏奥易杰科技有限公司, 山羊抗兔, 稀释比例 1:3000) 孵育 1 h, 采用四唑氮蓝 (nitro-blue tetrazolium, NBT)/5-溴-4-氯-3-吲哚-磷酸盐 (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate, BCIP) 显色,以 Quantity One 软件扫描分析灰度值。

六、统计学分析

采用中文 SPSS 19.0 版统计学软件进行数据分析,所有数据均用 ($\bar{x} \pm s$) 来表示,组间对比分析采用单因素方差分析 (one-way analysis of variance, ANOVA) 方法。以 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、3 组大鼠体重、肝脏湿重和肝指数的比较

实验 12 周后,模型组大鼠的体重、肝脏湿重和肝指数均显著高于正常组,组间差异均有统计学

意义 ($P < 0.01$)。运动组大鼠的体重、肝脏湿重和肝指数显著性低于模型组,组间差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 详见表 1。

二、3 组大鼠肝脏组织学观察

实验 12 周后,正常组大鼠肝脏组织形态学基本正常,肝索排列整齐,肝小叶结构完整清晰,未见脂肪变性及炎症细胞浸润;模型组大鼠肝脏组织出现变性,肝细胞气球样变,可见弥漫性肝细胞脂肪变性,肝索紊乱,肝小叶内、汇管区炎症细胞浸润;运动组大鼠肝索排列较模型组整齐,肝小叶分界较清楚,部分肝细胞内脂肪变性明显减轻,肝小叶内、汇管区炎症细胞浸润明显减轻,详见图 1。

三、3 组大鼠炎症活动度评分

实验 12 周后,模型组大鼠肝脏炎症活动度评分显著高于正常组,组间差异有统计学意义 ($P < 0.01$);运动组大鼠肝脏炎症活动度评分显著低于模型组,组间差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 详见表 1。

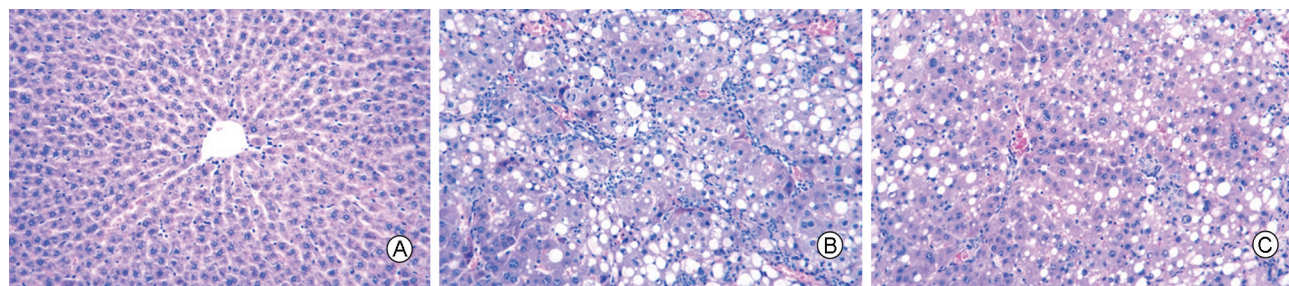
四、3 组大鼠肝血清指标检测

实验 12 周后,模型组大鼠血清 TC、TG、FFA、ALT、AST 显著高于正常组,组间差异均有统计学意义 ($P < 0.01$);运动组大鼠血清 TC、TG、FFA、ALT、AST 显著低于模型组,组间差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 详见表 2。

表 1 3 组大鼠体重、肝脏湿重和肝指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	大鼠体重 (g)	肝脏湿重 (g)	肝指数 (%)	炎症活动度评分 (分)
正常组	10	440.37±18.52	9.53±2.24	2.21±0.32	0.58±0.64
模型组	10	521.65±36.81 ^a	21.14±3.19 ^a	4.37±0.53 ^a	7.36±1.96 ^a
运动组	10	466.95±24.63 ^b	13.26±2.75 ^b	2.83±0.41 ^b	3.96±0.82 ^{ab}

注:与正常组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为运动组

图 1 3 组大鼠肝脏形态学观察 (HE 染色, ×200)

表 2 3 组大鼠血清各指标检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	FFA (μmol/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)
正常组	10	1.73±0.46	0.83±0.21	48.46±14.48	37.56±5.28	61.87±16.72
模型组	10	4.84±1.87 ^a	1.79±0.43 ^a	78.82±18.52 ^a	70.79±19.47 ^a	160.64±27.56 ^a
运动组	10	2.33±0.54 ^b	1.17±0.18 ^b	53.82±15.71 ^b	43.56±8.86 ^b	68.87±19.92 ^b

注:与正常组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$

五、3 组大鼠肝组织 mTOR、S6K1 和 SREBP-1c 蛋白表达检测

实验 12 周后,模型组大鼠肝组织 mTOR、S6K1、SREBP-1c 蛋白表达显著高于正常组,组间差异均有统计学意义($P<0.01$);运动组大鼠肝组织 mTOR、S6K1、SREBP-1c 表达显著低于模型组,组间差异均有统计学意义($P<0.01$),详见表 3 和图 2。

表 3 3 组大鼠肝组织 mTOR、S6K1、SREBP-1c 蛋白表达检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	mTOR	S6K1	SREBP-1c
正常组	10	0.43±0.12	0.52±0.14	0.35±0.13
模型组	10	1.12±0.24 ^a	1.34±0.35 ^a	0.84±0.12 ^a
运动组	10	0.54±0.18 ^b	0.61±0.21 ^b	0.41±0.15 ^b

注:与正常组相比较,^a $P<0.01$;与模型组相比较,^b $P<0.01$

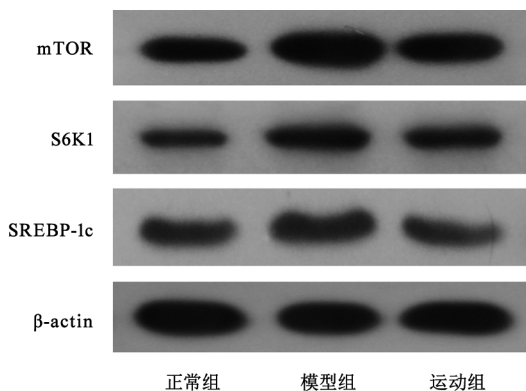


图 2 Western Blot 检测肝组织 mTOR、S6K1、SREBP-1c 蛋白表达

讨 论

本研究结果显示,经特定高脂饲料喂养 12 周后,模型组大鼠的体重、肝脏湿重、肝脏指数均明显增加;HE 染色结果显示,模型组大鼠肝脏组织出现变性,肝细胞气球样变,可见弥漫性肝细胞脂肪变性,肝索紊乱,肝小叶内、汇管区炎性细胞浸润,这些都是非酒精性脂肪肝典型的病理学特征。该结果提示,本实验成功复制了邱根全等^[7]报道的非酒精性脂肪肝动物模型。

本研究结果显示,实验 12 周后,运动组大鼠较模型组大鼠体重、肝脏湿重和肝脏指数明显降低,HE 染色结果发现,运动组大鼠肝细胞索排列较模型组整齐,脂肪变性以及肝小叶内、汇管区炎性细胞浸润明显减轻,肝脏炎症活动度评分明显低于模型组。同时,在实验 12 周后,模型组大鼠肝脏组织出现变性,肝细胞气球样变,可见弥漫性肝细胞脂肪变性。模型组大鼠血清 TC、TG、FFA 浓度均显著高于正常组。该结果提示,模型组大鼠可能由于 12 周的高脂饮食引发胰岛素抵抗导致肝细胞内甘油三酯过度累积,肝脏脂质代谢

异常,最终导致血脂指标(TC、TG、FFA)浓度异常升高和肝细胞脂肪性变。NAFLD 是一种脂质在肝细胞沉积为主要特征的临床病理综合征,随着脂质在肝脏堆积以及脂质过氧化导致肝脏损伤。其病理过程中,最被广泛接受的潜在机制是“二次打击”学说^[2]:第一次打击为胰岛素抵抗导致的肝细胞内甘油三酯的累积,第二次打击为氧化应激等引起的炎症和纤维化。肝脏可通过调节脂肪酸摄取、合成、氧化以及脂蛋白的合成与分泌来调节脂质代谢,但肝组织吸收和体内合成脂肪酸的相对速率大于氧化速率时,甘油三酯在肝细胞中堆积从而导致肝细胞的脂肪变性。非酒精性脂肪肝病过程中存在血清指标 TC、TG、FFA 异常升高,同时肝细胞出现明显脂肪性变^[10],可能与第一次打击造成的胰岛素抵抗有关。本研究结果中,运动组大鼠血清 TC、TG、FFA 浓度均显著低于模型组,运动组大鼠肝索排列较模型组整齐,肝小叶分界较清楚,部分肝细胞内脂肪变性明显减轻。该结果提示,有氧运动可能通过改善第一次打击所致的肝组织脂质代谢异常,从而缓解肝组织脂肪沉积。

本研究结果还显示,模型组大鼠肝组织肝索紊乱,肝小叶内、汇管区炎性细胞浸润,且炎症活动度评分明显高于正常组。血清检测结果显示,模型组大鼠血清 AST 和 ALT 浓度明显高于正常组。该结果提示,经 12 周高脂饮食喂养后,大鼠的肝细胞甘油三酯过度累积,可能引发了脂质过氧化,最终导致肝组织的炎症反应和肝功指标(AST、ALT)的异常变化。随着脂类在肝细胞内的累积会导致肝脏的炎症反应,肝脏受损引发血清 AST 和 ALT 的异常升高^[10],可能与第二次打击造成的氧化应激有关。本研究中,运动组大鼠肝细胞索排列较模型组整齐,脂肪变性以及肝小叶内、汇管区炎性细胞浸润明显减轻,肝脏炎症活动度评分明显低于模型组。该结果提示,有氧运动可能通过缓解脂质堆积引起的第二次打击,减轻肝组织的炎症反应。

研究表明,有氧运动可以明显提高非酒精性脂肪肝大鼠组织单磷酸腺苷激活蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)水平,同时还可以降低肝组织核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)和肿瘤坏死因子- α (tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)蛋白表达,改善非酒精性脂肪肝大鼠的血脂、肝功能指标、炎症以及肝细胞脂质积累过程^[3,11]。还有研究表明,有氧运动可以明显提高 pAMPK/AMPK 蛋白表达,同时抑制 SREBP1c mRNA 的表达,缓解非酒精性脂肪肝小鼠脂质代谢异常和肝组织炎症^[12]。磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)和蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)在非酒精性脂肪性肝炎的发病过程中,可以调控 SREBP-1c 途径促进肝脏脂肪生

成^[13],而负调控 PI3K/Akt/mTOR 通路改善非酒精性脂肪肝大鼠血脂和肝组织病理特征^[14]。研究表明,mTOR/S6K1/SREB-1c 信号传导途径可以参与 HepG2 (liver hepatocellular carcinoma) 细胞脂质生成过程^[15],提示 mTOR/S6K1/SREB-1c 信号通路可能与非酒精性脂肪肝大鼠脂质代谢异常有关。本研究结果中,运动组大鼠的肝组织的 mTOR、S6K1 及 SREBP-1c 蛋白表达水平均显著低于模型组,提示非酒精性脂肪肝大鼠脂质代谢异常和肝组织脂肪沉积的减轻可能与有氧运动下调了 mTOR、S6K1 和 SREBP-1c 蛋白的表达有关。

有氧运动可显著降低非酒精性脂肪肝大鼠肝组织 mTOR 蛋白水平,其中 AMPK 在能量代谢过程中可能起了关键作用,因为细胞培养发现,AMPK mRNA 的下调可以引起 mTOR mRNA 水平的提高^[16]。研究表明,有氧运动训练可通过提高骨骼肌中的 AMPK 信号表达来干预 I 型糖尿病的病理过程^[17]。本课题组推测,本研究中运动组大鼠肝组织 mTOR 蛋白表达的降低可能与有氧运动上调了 AMPK 的表达有关。

有氧运动下调非酒精性脂肪肝大鼠肝组织 mTOR 和 S6K1 蛋白表达水平,可能的机制为:①S6K1 是 mTOR 下游因子,应用雷帕素抑制剂可以抑制 mTOR 和 S6K1 蛋白表达水平,促进脂类的分解^[15]。运动组大鼠肝组织 mTOR 和 S6K1 表达显著降低,推测有氧运动可能通过下调 mTOR 的表达,使得 S6K1 表达下降,缓解了大鼠肝脏脂类的合成过程。②TNF- α 可以通过激活 S6K1 信号通路促进 B 淋巴瘤细胞增殖和存活^[18]。非酒精性脂肪肝病变过程中有大量炎症因子 TNF- α 的分泌,而有氧运动可以有效降低大鼠肝组织 TNF- α 的水平^[11],提示运动组大鼠肝组织 mTOR 和 S6K1 表达下降,还可能与有氧运动降低了 TNF- α 的表达有关。

有氧运动下调非酒精性脂肪肝大鼠肝脏 SREBP-1c 蛋白表达水平,可能的机制为:①研究表明,TSC2-/-MEF 细胞基因沉默 S6K1,可导致 SREBP1 蛋白表达水平大幅下降^[19],这说明 SREBP1 可以通过 S6K1 途径表达。提示运动组大鼠肝脏 SREBP-1c 的表达的下调,可能由于有氧运动下调了 S6K1 蛋白的水平引起了 SREBP-1c 蛋白表达水平下降。②肝脏 X 受体(liver X receptor-a, LXR-a)是核激素受体超家族重要成员之一,可以与类视黄醇 X 受体(retinoid X receptors, RXRs)形成异二聚体复合物,参与调控胆固醇、胆汁酸和脂肪酸等重要物质的代谢过程。LXR-a 是 SREBP-1c 的上游靶基因,研究表明,LXR-a 的激动剂能显著增加肝脏中 SREBP-1c 的表达^[15]。

综上所述,有氧运动对非酒精性脂肪肝有预防作用,可明显改善脂质代谢紊乱,减轻炎症反应,这可能

与有氧运动抑制了 mTOR、S6K1、SREBP-1c 的信号通路有关。

参 考 文 献

- [1] Wree A, Broderick L, Canbay A, et al. From NAFLD to NASH to cirrhosis-new insights into disease mechanisms [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10 (11): 627-636. DOI: 10.1038/nrgastro.2013.149.
- [2] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? [J]. Gastroenterology, 1998, 114 (4): 842-845. DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70599-2.
- [3] 荆西民,岳静静,吴卫东,等. 有氧运动对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织 AMPK 蛋白活性的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 2015, 34 (7): 653-657. DOI:10.16038/j.1000-6710.2015.07.007.
- [4] Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaeblerlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease [J]. Nature, 2013, 493 (7432): 338-345. DOI: 10.1038/nature11861.
- [5] Wang Y, Shi M, Fu H, et al. Mammalian target of the rapamycin pathway is involved in non-alcoholic fatty liver disease [J]. Mol Med Rep, 2010, 3 (6): 909-915. DOI: 10.3892/mmr.2010.365.
- [6] Lee JH, Baek SY, Jang EJ, et al. Oxyresveratrol ameliorates nonalcoholic fatty liver disease by regulating hepatic lipogenesis and fatty acid oxidation through liver kinase B1 and AMP-activated protein kinase [J]. Chem Biol Interact, 2018, 289: 68-74. DOI: 10.1016/j.cbi.2018.04.023.
- [7] 邱根全,叶峰,刘昶,等. 小柴胡汤对实验大鼠非酒精性脂肪肝的影响 [J]. 西安交通大学学报(医学版), 2013, 34 (3): 400-402. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8259.2013.03.027.
- [8] Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures [J]. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol, 1979, 47 (6): 1278-1283. DOI: 10.1152/jappl.1979.47.6.1278.
- [9] 王泰龄,刘霞,周之平,等. 慢性肝炎炎症活动度及纤维化程度计分方案 [J]. 中华肝脏病杂志, 1998, 6 (4): 195-197. DOI: 10.3760/j.issn.1007-3418.1998.04.002.
- [10] Fu D, Cui H, Zhang Y. Lack of C1C-2 Alleviates high fat diet-induced insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 45 (6): 2187-2198. DOI: 10.1159/000488164.
- [11] 马宏剑,张清雷,杨洁. 有氧运动对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织核转录因子- κ B/肿瘤坏死因子- α 蛋白表达的影响 [J]. 中国康复医学杂志, 2016, 31 (7): 800-802. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1242.2016.07.020.
- [12] Cho J, Lee I, Kim D, et al. Effect of aerobic exercise training on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice [J]. J Exerc Nutrition Biochem, 2014, 18 (4): 339-346. DOI: 10.5717/jenb.2014.18.4.339.
- [13] Zhang M, Chi X, Qu N, et al. Long noncoding RNA lncARSR promotes hepatic lipogenesis via Akt/SREBP-1c pathway and contributes to the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 499 (1): 66-70. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.03.127.
- [14] Zhang X. NAFLD Related-HCC: The relationship with metabolic disorders [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1061 (1): 55-62. DOI: 10.

1007/978-981-10-8684-7_5.

- [15] Zhou Y, Yu S, Cai C, et al. LXR α participates in the mTOR/S6K1/SREBP-1c signaling pathway during sodium palmitate-induced lipogenesis in HepG2 cells [J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2018, 15: 31. DOI: 10.1186/s12986-018-0268-9.
- [16] Wu XB, Liu Y, Wang GH, et al. Mesenchymal stem cells promote colorectal cancer progression through AMPK/mTOR-mediated NF- κ B activation [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21420. DOI: 10.1038/srep21420.
- [17] Ko JR, Seo DY, Park SH, et al. Aerobic exercise training decreases cereblon and increases AMPK signaling in the skeletal muscle of STZ-induced diabetic rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018,

501 (2): 448-453. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.05.009.

- [18] Gui L, Zeng Q, Xu Z, et al. IL-2, IL-4, IFN- γ or TNF- α enhances BAFF-stimulated cell viability and survival by activating Erk1/2 and S6K1 pathways in neoplastic B-lymphoid cells [J]. *Cytokine*, 2016, 84: 37-46. DOI: 10.1016/j.cyto.2016.05.017.
- [19] Düvel K, Yecies J L, Menon S, et al. Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex1 [J]. *Mol Cell*, 2010, 39 (2): 171-183. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.06.022.

(修回日期:2020-10-25)

(本文编辑:阮仕衡)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

中华医学会杂志社对一稿两投问题处理的声明

为维护中华医学会系列杂志的声誉和广大读者的利益,现将中华医学会系列杂志对一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下:

1. 本声明中所涉及的文稿均指原始研究的报告或尽管 2 篇文稿在文字的表达和讨论的叙述上可能存在某些不同之处,但这些文稿的主要数据和图表是相同的。所指文稿不包括重要会议的纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿及在一种刊物发表过摘要或初步报道而将全文投向另一种期刊的文稿。上述各类文稿如作者要重复投稿,应向有关期刊编辑部做出说明。

2. 如 1 篇文稿已以全文方式在某刊物发表,除非文种不同,否则不可再将该文投寄给他刊。

3. 请作者所在单位在来稿介绍信中注明文稿有无一稿两投问题。

4. 凡来稿在接到编辑部回执后满 3 个月未接到退稿,则表明稿件仍在处理中,作者欲投他刊,应事先与该刊编辑部联系并申述理由。

5. 编辑部认为文稿有一稿两投嫌疑时,应认真收集有关资料并仔细核实后再通知作者,同时立即进行退稿处理,在做出处理决定前请作者就此问题做出解释。期刊编辑部与作者双方意见发生分歧时,应由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

6. 一稿两用一经证实,期刊编辑部将择期在杂志中刊出其作者姓名和单位及撤销该论文的通告;对该作者作为第一作者所撰写的一切文稿,中华医学会系列杂志 2 年内将拒绝其发表;并就此事件向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。

中华医学会杂志社