

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.32.001
文章编号: 1005-8982 (2018) 32-0001-05

基础研究 · 论著

利拉鲁肽调节 2 型糖尿病大鼠肝脏 脂质沉积的机制探讨 *

郭皓宇¹, 曾亚¹, 申月明¹, 王俊¹, 侯周华²

(1. 湖南省长沙市中心医院 消化科, 湖南 长沙 410004; 2. 中南大学湘雅医院 感染病科, 湖南 长沙 410008)

摘要: 目的 探讨利拉鲁肽调节 2 型糖尿病 (T2DM) 大鼠肝脏脂质沉积的机制。**方法** 采用高脂饮食联合链脲佐菌素诱导复制 T2DM 大鼠模型, 随机分组为糖尿病组、利拉鲁肽组、对照组, 每组 10 只。通过肝脏形态学检测观察大鼠肝细胞脂质沉积改善情况; 血液学检测观察血清脂联素水平的变化; Western blot 检测肝脏 AMPK、Thr172p-AMPK、SREBP1 蛋白表达水平的变化。**结果** 糖尿病组大鼠较对照组大鼠肝细胞脂质沉积增多 ($P < 0.05$), 经利拉鲁肽治疗后肝细胞脂质沉积减小 ($P < 0.05$); 与对照组比较, 糖尿病组血清脂联素水平升高 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 糖尿病组大鼠肝脏 Thr172p-AMPK/AMPK 降低 ($P < 0.05$), SREBP-1c 表达水平升高 ($P < 0.05$)。利拉鲁肽治疗后, Thr172p-AMPK/AMPK 升高 ($P < 0.05$), SREBP-1c 表达水平降低 ($P < 0.05$)。**结论** 利拉鲁肽可通过抑制脂质合成, 进而改善 T2DM 大鼠的肝脏脂质沉积。

关键词: 脂质沉积; 2 型糖尿病; 利拉鲁肽

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

Mechanism of Liraglutide regulating hepatic steatosis in rats with type 2 diabetes mellitus*

Hao-yu Guo¹, Ya Zeng¹, Yue-ming Shen¹, Jun Wang¹, Zhou-hua Hou²

(1. Department of Gastroenterology, Changsha Central Hospital, Changsha, Hunan 410004, China;

2. Department of Infectious Diseases, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of Liraglutide regulating hepatic steatosis in rats with type 2 diabetes mellitus (DM). **Methods** A high-fat diet plus a low-dose streptozotocin was implemented to create a type 2 diabetic rat model. The rats were randomly divided into a DM group and a Liraglutide group, and healthy rats were as normal control group (NC group), each group had 10 rats. Liver fatty changes were evaluated with oil red O staining. Fasting plasma adiponectin concentration was measured by ELISA. Protein expression levels of AMP-activated protein kinase (AMPK), phosphorylated AMPK on threonine 172 (Thr172p-AMPK), and sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP-1c) in liver homogenate were detected by Western blot. ANOVA or LSD test was used for data analysis. **Results** Compared with the NC group, the presence of cytoplasmic lipid deposits in the DM group was confirmed by oil red O staining ($P < 0.05$). Lipids deposition in hepatocytes was significantly alleviated in the Liraglutide group as compared to the DM group ($P < 0.05$). Compared to the NC group, plasma adiponectin level was significantly increased ($P < 0.05$), Thr172p-AMPK/AMPK in the rat liver was significantly

收稿日期: 2018-05-24

* 基金项目: 湖南省科技厅科技计划项目 (No: 2013SK3025)

[通信作者] 侯周华, E-mail: houzhouhua@163.com

reduced ($P < 0.05$), and SREBP-1c expression was increased in the DM group ($P < 0.05$). After Liraglutide therapy Thr172p-AMPK/AMPK was significantly increased, SREBP-1c expression was significantly declined ($P < 0.05$). **Conclusions** Liraglutide ameliorates hepatic steatosis probably by inhibiting lipogenesis in rats.

Keywords: lipoidosis; diabetes mellitus; Liraglutide

胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 是肠道 L 细胞分泌的激素^[1]。人类的 GLP-1 受体在第 6 号染色体^[2]。GLP-1 可通过抑制胰高血糖素分泌、延缓胃排空等作用调控血糖^[3]。GLP-1 受体激动剂通过 SIRT1 改善小鼠非酒精性脂肪肝^[4]。利拉鲁肽是临床一线药^[5], 其调节脂肪肝作用仍未明确。

在表达 GLP-1 的 ob/ob 小鼠中, 脂肪酰合酶 (fatty acid synthase, FAS) 表达降低, 说明 GLP-1 能调节肝脏脂质沉积^[6]。其他研究显示, 脂肪肝模型中胆固醇调节元件结合蛋白-1c (sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c) 被激活, 提示 SREBP-1c 是脂肪肝的主要调控因素^[7]。

本研究通过利拉鲁肽干预 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 大鼠, 探讨其对 T2DM 大鼠肝脏脂质沉积的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 30 只雄性 SD 大鼠, 7 ~ 8 周龄, 体重 180 ~ 200 g, 购自中南大学实验动物学部。

1.1.2 主要试剂及仪器 高脂饲料 (脂肪 60%) (美国 Research Diets 公司), 利拉鲁肽注射液 [北京诺和诺德 (中国) 制药有限公司], 血清脂联素酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (美国 RayBiotech 公司), 腺苷酸激活蛋白激酶 (adenosine 5' -monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 抗体、磷酸化的 AMP 激活的蛋白激酶 (Thr172p-AMPK) 抗体、 β -actin (13E5) 抗体购自美国 CST 公司, 胆固醇调节因子结合蛋白 1 (sterol-regulatory element binding proteins 1, SREBP1) 抗体 (英国 Abcam 公司), 链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ)、油红 O 染色试剂购自美国 Sigma 公司, Optium 血糖检测试纸 (美国雅培公司), 正立显微成像系统 BX51WI (日本 Olympus 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的复制及干预 30 只雄性 SD 大鼠在 (22 ± 2) °C、湿度 50%、12 h 昼/夜循环照明的洁净

环境中, 以干燥玉米碎末为垫料, 5 只/笼, 自由取水和饮食适应性喂养 2 周。根据体重随机抽取 20 只 SD 大鼠复制 T2DM 模型: 高脂饲料 (脂肪 60%) 喂养 5 周, 随后腹腔注射 STZ (35 mg/kg 体重), 3 d 后经尾静脉取血测量空腹血糖。空腹血糖 >13.8 mmol/L 即 T2DM 大鼠模型复制成功^[8-9]。

1.2.2 实验分组 将 T2DM 大鼠模型随机分为两组, 每组 10 只。糖尿病组大鼠维持高脂喂养, 不干预; 利拉鲁肽组大鼠维持高脂喂养, 并通过腹腔注射利拉鲁肽 (0.225 μ g/g 体重), 2 次/d^[10]。剩余 10 只大鼠以普通饲料 (脂肪 10%) 常规喂养, 作为对照组。以利拉鲁肽治疗后 8 周作为实验终点, 处死实验动物前取全血并分离血清, 处死动物后立刻切取肝脏标本, 置于液氮罐中快速冷冻, 随后转移至 -80 °C 超低温冰箱中保存备用。

1.2.3 临床指标 监测血糖时大鼠禁食 8 h。采用 Optium 血糖检测试纸检测大鼠空腹血糖。在室温下将 1 滴血液标本滴于试纸样品槽, 血糖监测仪自动读出血糖浓度, 每个标本检测 3 次^[4]。收集动物标本后, 用离心法从全血中分离出血清, 用酶法检测血清中三酰甘油和总胆固醇的含量, 每个标本重复测量 3 次。所有检测方法按试剂盒说明书进行操作。

1.2.4 肝组织冷冻切片油红 O 染色 将获取的新鲜肝组织浸泡于液氮中快速冷却, 随后转移至冷冻切片机中进行冷冻切片, 厚度约 8 μ m。将冷冻切片用 PBS 洗涤 2 次, 用 4% 多聚甲醛固定 10 min, 再以 PBS 洗涤 3 次。将已固定的切片浸泡于 0.5% 油红 O 染液 10 ~ 15 min 后, 转移至 60% 酒精中, 分化切片至间质清晰。采用苏木精染液对细胞核进行复染 1 ~ 2 min。将切片在流动双蒸水中冲洗后以中性树胶封片。将油红 O 染色肝脏切片置于光学显微镜下, 观察肝组织的脂肪沉积情况^[4]。

1.2.5 血清脂联素水平检测 采用脂联素 ELISA 试剂盒检测血清脂联素水平。在预铺脂联素一抗的 96 孔板中加入大鼠的血清样品和不同浓度的标准品, 37 °C 条件下孵育后洗涤, 加入链接辣根过氧化物酶标记的抗生物素二抗, 孵育后再次洗涤。加入四甲基联

苯胺底物, 室温下显色 1 min 后加入硫酸终止显色反应。立即在酶标仪中测量各孔 450 nm 波长处的吸光度, 通过建立标准曲线计算各血清标本中脂联素水平。

1.2.6 Western blot 检测 采用 Western blot 检测肝组织中 Thr172p-AMPK、AMPK、SREBP-1c 蛋白的表达水平。在冷浴条件下用匀浆器对肝脏进行匀浆分散。在每个标本的分散液中加入裂解液, 提取标本的总蛋白和核蛋白。以 BCA 法建立蛋白定量标准曲线后, 定量计算各肝脏标本中的总蛋白和蛋白浓度。由于 Thr172p-AMPK、AMPK、SREBP-1c 及 β -actin 蛋白分子量差异明显, 室温下分别用 7% 和 10% SDS-PAGE 胶对蛋白电泳分离 1.0 ~ 1.5 h, 在冷浴条件下转膜 45 min。用 5% 脱脂奶粉溶液完全浸泡 PVDF 膜, 室温下封闭 2 h。分别将膜在相应的抗体中进行孵育, 4℃ 条件下孵育过夜。次日将膜洗涤 3 次后, 加入荧光二抗在室温下避光孵育, 洗涤后在多功能成像仪暗室中曝光、成像、记录图像。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用单因素方差分析, 两两比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠临床指标比较

2.1.1 体重 3 组大鼠体重比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD-*t* 检验, 与对照组比较, 糖尿病组大鼠体重增加 ($P < 0.05$); 与糖尿病组比较, 利拉鲁肽降低了大鼠的体重 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.1.2 空腹血糖 3 组大鼠空腹血糖比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD-*t* 检验, 与对照组比较, 糖尿病组大鼠空腹血糖升高 ($P < 0.05$); 与糖尿病组比较, 利拉鲁肽降低了大鼠的空腹血糖 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.1.3 三酰甘油 3 组大鼠血清三酰甘油水平比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD-*t* 检验, 与对照组比较, 糖尿病组大鼠三酰甘油水平升高 ($P < 0.05$); 与糖尿病组比较, 利拉鲁肽降低了大鼠的三酰甘油水平 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.1.4 总胆固醇 3 组大鼠血清总胆固醇水平比较, 经单因素方差分析, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠临床指标比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	体重/g	空腹血糖/(mmol/L)	三酰甘油/(mmol/L)	总胆固醇/(mmol/L)
对照组	375.12 \pm 6.312	4.910 \pm 0.301	0.594 \pm 0.093	7.544 \pm 1.982
糖尿病组	419.42 \pm 8.111 ¹⁾	18.042 \pm 0.492 ¹⁾	2.022 \pm 0.064 ¹⁾	9.869 \pm 2.321
利拉鲁肽组	336.33 \pm 12.123 ²⁾	8.030 \pm 0.361 ²⁾	0.613 \pm 0.071 ²⁾	7.348 \pm 3.033
<i>F</i> 值	2.749	5.448	6.749	0.774
<i>P</i> 值	0.047	0.002	0.002	0.538

注: 1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与糖尿病组比较, $P < 0.05$

2.2 利拉鲁肽减轻 T2DM 大鼠的脂质沉积

肝脏冷冻切片油红 O 染色可见对照组大鼠肝脏中几乎无脂肪沉积, 而糖尿病组 T2DM 大鼠肝脏中可

见大量的脂肪滴沉积。T2DM 大鼠经利拉鲁肽治疗后, 肝脏组织也可见脂质沉积, 但其沉积程度低于糖尿病组。见图 1。

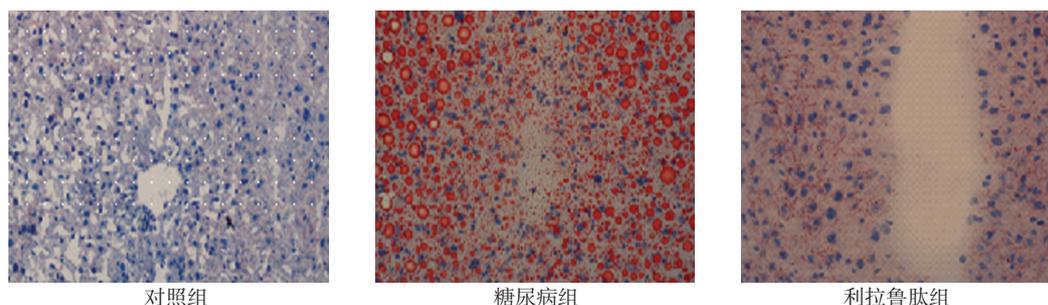


图 1 各组大鼠脂质沉积情况 (油红 O 染色 $\times 20$)

2.3 利拉鲁肽对血清脂联素的影响

对照组、糖尿病组、利拉鲁肽组大鼠血清脂联素水平分别为 (49.84 ± 3.56) 、 (16.84 ± 1.45) 和 (86.55 ± 4.44) ng/ml, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F=6.128, P=0.004$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, 与对照组比较, 糖尿病组大鼠血清脂联素水平降低 61.51% ($t=5.448, P=0.044$); 经利拉鲁肽治疗后大鼠血清脂联素水平较糖尿病组升高 4.61 倍 ($t=6.512, P=0.0043$)。

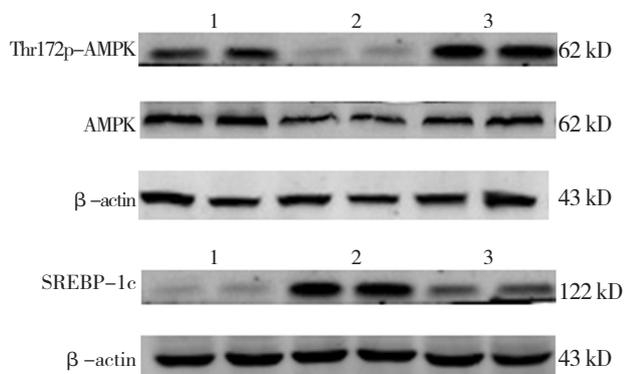
2.4 利拉鲁肽对大鼠肝脏 Thr172p-AMPK、AMPK、SREBP-1c 蛋白表达的影响

3 组大鼠肝脏 Thr172p-AMPK、AMPK、SREBP-1c 蛋白相对表达量比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, 糖尿病组大鼠肝脏 AMPK 和 Thr172p-AMPK 蛋白表达水平较对照组降低 ($P<0.05$), 而 SREBP-1c 蛋白表达水平升高 ($P<0.05$); 利拉鲁肽干预治疗后, 利拉鲁肽组大鼠肝脏 Thr172p-AMPK 和 AMPK 蛋白相对表达量回升 ($P<0.05$), 同时 SREBP-1c 蛋白相对表达量降低 ($P<0.05$)。见表 2 和图 2。

表 2 各组大鼠肝脏 Thr172p-AMPK、AMPK、SREBP-1c 蛋白表达水平比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	Thr172p-AMPK	AMPK	SREBP-1c
对照组	1.15 ± 0.46	3.18 ± 1.11	0.594 ± 0.12
糖尿病组	$0.99 \pm 0.23^{1)}$	$1.75 \pm 0.54^{1)}$	$4.11 \pm 0.98^{1)}$
利拉鲁肽组	$3.98 \pm 0.99^{2)}$	$2.93 \pm 0.88^{2)}$	$0.613 \pm 0.11^{2)}$
F 值	2.881	4.452	7.113
P 值	0.038	0.015	0.015

注: 1) 与对照组比较, $P<0.05$; 2) 与糖尿病组比较, $P<0.05$



1: 对照组; 2: 糖尿病组; 3: 利拉鲁肽组

图 2 各组大鼠肝脏 Thr172p-AMPK、AMPK、SREBP-1c 蛋白的表达

3 讨论

GLP-1 是一种葡萄糖依赖性肠促胰素。大量研究结果显示, 其对 T2DM、代谢综合征及非酒精性脂肪肝有明显的改善作用^[4, 10-12]。GLP-1 受体激动剂可显著降低糖尿病患者体重、空腹血糖, 糖化血红蛋白水平^[13], 促进 β 细胞增殖, 抵制细胞凋亡^[14]。作为 GLP-1 受体激动剂的利拉鲁肽, 已广泛应用于 T2DM 的降糖治疗中。研究显示, 利拉鲁肽具有改善胰岛素抵抗及脂质代谢紊乱作用^[15-16], 但其对减轻肝脏脂质沉积的作用机制缺乏统一观点^[17], 目前主要认为其可能通过脂肪酸合成过程影响肝脏脂质平衡, 改善肝脏的脂肪过度沉积。

本研究采用高脂饮食和 STZ 诱导复制 T2DM 大鼠模型, 糖尿病组大鼠血糖和血脂水平较对照组升高, 提示糖尿病组大鼠存在糖脂代谢异常, 经利拉鲁肽治疗后, 血糖和血脂均明显恢复, 证实利拉鲁肽改善大鼠糖脂代谢的作用。此外, 通过大鼠肝脏组织油红 O 染色结果显示, 利拉鲁肽可同时减轻 T2DM 大鼠肝脏的脂质沉积, 与相关研究结果一致。

本研究结果显示, 脂联素与肝脏的胰岛素抵抗呈负相关, 通过与其受体结合激活 AMPK, 从而加速细胞内的脂质代谢^[7]。T2DM 个体中脂联素明显降低, 表明脂联素可能是 T2DM 个体肝脏脂肪过度沉积的关键因子, 但其相关机制尚未明确。因此本研究对其相关机制进行探讨, 推测利拉鲁肽在 T2DM 大鼠中上调脂联素, 一方面通过激活 Thr172p-AMPK、AMPK 加速脂质代谢^[18]; 另一方面通过下调 SREBP-1c 的表达, 减少脂肪酸的合成, 从而减少 T2DM 的肝脏脂质沉积。本研究结果显示, 利拉鲁肽能提高 T2DM 大鼠血清的脂联素水平, 提示利拉鲁肽可能通过脂联素通路改善肝脏的脂质代谢。本研究中 Western blot 检测结果与血清检测结果一致。本研究结果显示, 利拉鲁肽通过激活脂联素-AMPK 通路, 抑制 SREBP-1c 的表达, 减轻 T2DM 大鼠肝脏的脂质沉积。

然而, GLP-1 受体激动剂调控肝脏脂质代谢的过程是多通路、多方面的, GLP-1 受体激动剂也可能通过激活 MAPK 通路, 促进脂肪酸氧化, 逆转肝细胞脂肪变性^[19-20]。近期有体外研究显示, 在 LO2 细胞中, 利拉鲁肽能够通过增加细胞自噬作用, 从而减少肝脏的脂肪沉积^[21]。

GLP-1 受体激动剂能够改善患者的脂肪沉积的报道越来越多^[22-23], 且主要通过 2 个途径: ①抑制脂

肪合成和沉积; ②刺激脂肪酸氧化来改善肝脏的脂质沉积, 但具体机制并未完全阐述明晰。作为 GLP-1 类似物的利拉鲁肽, 在 T2DM 及其并发症的治疗方面具有非常好的前景, 且目前利拉鲁肽已经是减轻体重的一线用药, 但其分子生物学机制仍不清楚。

虽然利拉鲁肽可通过抑制脂质合成来改善 T2DM 大鼠的非酒精性脂肪肝, 但是利拉鲁肽是否可以通过刺激脂肪酸氧化或加强肝脏脂质动员来发挥作用, 是本研究后续要探讨的问题。

参 考 文 献:

- [1] DONG Y, LV Q, LI S, et al. Efficacy and safety of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2017, 5 (16): 30202-30209.
- [2] GUPTA N A, MELLIS J, DUNHAM R M, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor is present on human hepatocytes and has a direct role in decreasing hepatic steatosis in vitro by modulating elements of the insulin signaling pathway[J]. *Hepatology*, 2010, 51(5): 1584-1592.
- [3] WILDING J P H. Medication use for the treatment of diabetes in obese individuals[J]. *Diabetologia*, 2018, 61: 265-272.
- [4] XU F, LI Z, ZHENG X B, et al. SIRT1 mediates the effect of GLP-1 receptor agonist exenatide on ameliorating hepatic steatosis[J]. *Diabetes*, 2014, 63(11): 3637-3646.
- [5] MEHTA A, MARSO S P, NEELAND I J. Liraglutide for weight management: a critical review of the evidence[J]. *Obes Sci Pract*, 2017, 3(1): 3-14.
- [6] SHARMA S, MELLIS J E, FU P P, et al. GLP-1 analogs reduce hepatocyte steatosis and improve survival by enhancing the unfolded protein response and promoting macroautophagy[J]. *PLoS One*, 2011, DOI: 10.1371/journal.pone.0025269.
- [7] CHEN H, ZHANG L, LI X, et al. Adiponectin activates the AMPK signaling pathway to regulate lipid metabolism in bovine hepatocytes[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013, 138: 445-454.
- [8] XIA X, YAN J, SHEN Y, et al. Berberine improves glucose metabolism in rats by inhibition of hepatic gluconeogenesis[J]. *PLoS One*, 2011, DOI:10.1371/journal.pone.0016556.
- [9] SCHWASINGER-SCHMIDT T, ROBBINS D C, WILLIAMS S J, et al. Long-term liraglutide treatment is associated with increased insulin content and secretion in beta-cells, and a loss of alpha-cells in ZDF rats[J]. *Pharmacol Res*, 76: 58-66.
- [10] NAUCK M, FRID A, HERMANSEN K, et al. Long-term efficacy and safety comparison of liraglutide, glimepiride and placebo, all in combination with metformin in type 2 diabetes: 2-year results from the LEAD-2 study[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2013, 15(3): 204-212.
- [11] LEE J, HONG S W, RHEE E J, et al. GLP-1 receptor agonist and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Diabetes Metab J*, 2012, 36(4): 262-267.
- [12] CUTHBERTSON D J, IRWIN A, GARDNER C J, et al. Improved gly-caemia correlates with liver fat reduction in obese, type 2 diabetes, patients given glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): DOI: org/10.1371/journal.pone.0050117
- [13] LEE S, LEE D. Glucagon-like peptide-1 and glucagon-like peptide-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes. *Yann pediatr endocrinol metab*[J]. 2017, 22(1): 15-26.
- [14] BASTIEN-DIONNE P O, VALENTI L, KON N, et al. Glucagon-like peptide 1 inhibits the sirtuin deacetylase SirT1 to stimulate pancreatic beta-cell mass expansion[J]. *Diabetes*, 2011, 60(12): 3217-3222.
- [15] BURMEISTER M A, FERRE T, AYALA J E, et al. Acute activation of central GLP-1 receptors enhances hepatic insulin action and insulin secretion in high-fat-fed, insulin resistant mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 302(3): e334-e343.
- [16] TREVASKIS J L, GRIFFIN P S, WITTMER C, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonism improves metabolic, biochemical, and histopathological indices of nonalcoholic steatohepatitis in mice[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 302(8): 762-772.
- [17] OHKI T, ISOGAWA A, IWAMOTO M, et al. The effectiveness of liraglutide in nonalcoholic fatty liver disease patients with type 2 diabetes mellitus compared to sitagliptin and pioglitazone[J]. *Scientific World Journal*, 2012, DOI: org/10.1371/journal.pone.496453.
- [18] YAMADA T, KATAGIRI H. Avenues of communication between the brain and tissues/organs involved in energy homeostasis[J]. *Endocr J*, 2007, 54(4): 497-505.
- [19] SAMSON S L, BAJAJ M. Potential of incretin-based therapies for non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Diabetes Complications*, 2013, 27(4): 401-406.
- [20] BEN-SHLOMO S, ZVIBEL I, SHNELL M, et al. Glucagon-like peptide-1 reduces hepatic lipogenesis via activation of AMP-activated protein kinase[J]. *J Hepatol*, 2011, 54(6): 1214-1223.
- [21] ZHOU S W, ZHANG W, ZHU M, et al. Liraglutide reduces lipid accumulation in steatotic L-02 cells by enhancing autophagy[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2014, 10: 2351-2357.
- [22] PANJWANI N, MULVIHILL E E, LONGUET C, et al. GLP-1 receptor activation indirectly reduces hepatic lipid accumulation but does not attenuate development of atherosclerosis in diabetic male ApoE (-/-) mice[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(1): 127-139.
- [23] MELLIS J E, FU P P, SHARMA S, et al. Glp-1 analog, liraglutide, ameliorates hepatic steatosis and cardiac hypertrophy in C57BL/6J mice fed a western diet[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012. 302(2): 225-235.

(童颖丹 编辑)