

· 论 著 ·

# 利拉鲁肽对糖尿病合并脂肪肝大鼠的脂代谢相关基因表达的影响

朱红霞<sup>1</sup>, 邓晓龙<sup>1</sup>, 高静<sup>1</sup>, 李晓岚<sup>1</sup>, 王伟<sup>2</sup>, 王敏哲<sup>1</sup>

1. 新疆医科大学第五附属医院内分泌科, 新疆 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆医科大学第五附属医院药剂科, 新疆 乌鲁木齐 830011

**摘要:** **目的** 探讨长效人胰升糖素样肽-1 (GLP-1) 类似物 - 利拉鲁肽对 2 型糖尿病 (T2DM) 合并非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 大鼠的脂代谢相关基因 mRNA 表达的影响。**方法** 健康雄性 8 周龄 SD 大鼠 36 只, 按随机数字表法分为三组 (每组 12 只): 正常对照组 (NC 组)、模型组 (MC 组) 及 GLP 组。NC 组喂以常规饲料; MC 组喂以高脂高糖饲料, 并一次性腹腔注射链脲佐菌素 (STZ, 30 mg/kg); GLP 组喂以高脂高糖饲料, 并一次性腹腔注射 STZ (30 mg/kg) 及腹部皮下注射利拉鲁肽 (0.4 mg/kg, 1 次/d), 三组时限均为 4 周; MC 组和 GLP 组均在一次性注射 STZ 4 周后检测血糖, 判断是否成功建立 T2DM 模型。取肝组织病理切片, HE 染色后光镜下观察肝细胞脂肪变性情况。采用实时荧光定量 PCR 方法检测肝脏组织脂代谢相关靶基因 - 脂肪酸合酶 (FAS)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC-a)、载脂蛋白  $\beta$ 100 (apo $\beta$ 100) 的 mRNA 表达, 并检测糖脂代谢相关生化指标。**结果** MC 组及 GLP 组各成功建立 T2DM 模型大鼠 11 只及 12 只。NC 组未见肝细胞脂肪变性, MC 组、GLP 组均见明显肝细胞脂肪变性, 但 GLP 组程度明显低于 MC 组。GLP 组大鼠血浆空腹血糖 (FBG) 和空腹胰岛素 (FINS) 水平, 血浆总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 和游离脂肪酸 (FFAs) 水平均较 MC 组明显降低, 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平则较 MC 组明显升高 ( $P$  均  $< 0.05$ ); 与 NC 组比较, MC 组与 GLP 组大鼠肝组织 FAS、ACC-a mRNA 相对表达量均显著升高 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 而 GLP 组上述指标明显低于 MC 组 ( $P$  均  $< 0.01$ ); MC 组与 GLP 组大鼠肝组织 apo $\beta$ 100 相对表达量均低于 NC 组 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 但 GLP 组高于 MC 组 ( $P < 0.01$ )。**结论** 利拉鲁肽可能通过下调脂代谢相关基因的表达, 从而改善脂质代谢紊乱, 减缓 NAFLD 发病的进程。

**关键词:** 长效人胰升糖素样肽-1 类似物; 2 型糖尿病; 非酒精性脂肪肝; 脂代谢; 基因; 脂肪酸合酶; 乙酰辅酶 A 羧化酶; 载脂蛋白  $\beta$ 100

中图分类号: R 587.1 R-33 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2017)01-0007-04

## Effects of liraglutide on expressions of lipid metabolism -related genes in rats with T2DM and fatty liver

ZHU Hong-xia\*, DENG Xiao-long, GAO Jing, LI Xiao-lan, WANG Wei, WANG Min-zhe

\* Department of Endocrinology, The Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China

Corresponding author: WANG Min-zhe, E-mail: wangminzhe2010@sohu.com

**Abstract: Objective** To investigate the effects of liraglutide, a long acting human glucagon like peptide -1 (GLP-1) analogues, on the expression of lipid metabolism -related genes mRNAs in rats with type 2 diabetes (T2DM) combined with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** According to the random number table method, 36 healthy male 8 weeks SD rats were divided into three groups ( $n = 12$  each): normal control group (NC group), model group (MC group) and GLP group. In NC group, the rats were fed with regular diet. In MC group, the rats were fed with high fat and sugar diet and treated with intraperitoneal injection of sheptozotocin (STZ) one-time (30 mg/kg). In GLP group, the rats were fed with high fat and high sugar diet and treated with intraperitoneal injection of STZ one-time (30 mg/kg) plus abdominal subcutaneous injection of liraglutide (0.4 mg/kg, once a day). The time of treatment was all 4 weeks in 3 groups. The blood glucose levels in MC group and GLP group were detected 4 weeks after injection of STZ one-time to judge whether the T2DM models were successfully established. Taking section of liver tissue, fatty degeneration of liver cells was observed un-

der light microscope after HE staining. Real-time quantitative polymerase chain reaction was used to detect the expressions of lipid metabolism -related target genes [ fatty acid synthase (FAS), acetyl CoA carboxylase (ACC-a), apolipoprotein  $\beta$ 100 (apo  $\beta$ 100) ] mRNAs in liver tissues. Biochemical parameters related to glucose and lipid metabolism were detected. **Results** T2DM model was established in 11 rats of MC group and 12 rats of GLP group. No fatty degeneration of liver cells was found in NC group. The fatty degeneration of liver cells was found in both MC group and GLP group, but the degree of fatty degeneration in GLP group was significantly descended compared with MC group ( $P < 0.05$ ). The relative expression levels of FAS and ACC-a mRNAs in liver tissues in MC group and GLP group significantly increased compared with those in NC group (all  $P < 0.01$ ), but the aforementioned indexes in GLP group significantly decreased compared with that in MC group (all  $P < 0.01$ ). The relative expression levels of FAS and ACC-a mRNAs in rat liver tissues significantly increased in MC group and GLP group than those in NC group (all  $P < 0.01$ ), while the aforementioned indexes significantly decreased in GLP group than those in MC group (all  $P < 0.01$ ). The relative expression levels of apo $\beta$ 100 mRNA in rat liver tissues reduced significantly in MC group and GLP group than that in NC group (all  $P < 0.01$ ), but it raised significantly in GLP group than that in MC group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Liraglutide could improve lipid metabolism disorders and slow the progression of NAFLD pathogenesis probably through down-regulating lipid metabolism-related genes expressions.

**Key words:** Long acting human glucagon like peptide -1 analogues; Type 2 diabetes; Nonalcoholic fatty liver disease; Lipid metabolism; Gene; Fatty acidsynthase; Acetyl CoA carboxylase; Apolipoprotein  $\beta$ 100

约 75% 的 2 型糖尿病 (T2DM) 患者合并不同程度的脂肪肝<sup>[1]</sup>。脂质异常及胰岛素抵抗 (IR) 是导致 T2DM 患者发生脂肪肝的危险因素<sup>[2]</sup>。既往大部分对非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 的研究都集中在脂肪性肝炎阶段, 目的是为了预防或延缓肝硬化的发生发展, 往往忽视对单纯性脂肪肝这个阶段的防治。利拉鲁肽为长效人胰升糖素样肽-1 (GLP-1) 类似物, 可以刺激内源性胰岛素释放, 降低空腹血糖 (FBG) 及餐后血糖、血甘油三酯 (TG) 及游离脂肪酸 (FFAs) 水平<sup>[3]</sup>, 但利拉鲁肽对肝内脂代谢的影响及作用机制并不清楚, 为此我们建立了高脂、高糖喂养联合小剂量链脲佐菌素 (STZ) 诱导的糖尿病 SD 大鼠模型, 同时给予利拉鲁肽腹腔注射, 观察肝脏组织结构变化以及脂代谢相关基因 mRNA 表达水平, 以探讨利拉鲁肽对 T2DM 合并 NAFLD 的防治作用, 旨在为该病的早期防治提供基础研究依据。

## 1 材料与方 法

1.1 实验分组及动物模型制备 清洁级健康雄性 8 周龄 SD 大鼠 36 只, 体质量 180 ~ 200 g, 常州卡文斯实验动物有限公司提供。高脂高糖饲料 (基础饲料 82%, 猪油 10%, 胆固醇 2.5%, 胆酸钠 0.5%, 蔗糖 5%), 常州卡文斯实验动物有限公司提供。STZ, 美国 Sigma 公司提供。利拉鲁肽, 丹麦诺和诺德公司提供。按随机数字法将 36 只大鼠分为三组 (每组 12 只): 正常对照组 (NC 组) 喂以常规饲料, 4 周后腹腔注射相应体积的生理盐水; 模型组 (MC 组) 喂以高脂高糖饲料, 并给予腹腔一次性注射 STZ (30 mg/kg), 以破坏部分胰岛; GLP 组喂以高脂高糖饲料, 并一次

性腹腔注射 STZ (30 mg/kg), 同时, 腹部皮下注射利拉鲁肽 (0.4 mg/kg, 1 次/d)。GLP 组与 MC 组同样在一次性腹腔注射 STZ 4 周后检测血糖, 当连续两次以上出现  $FBG \geq 7.8$  mmol/L, 并伴有 IR, 视为成功建立了 T2DM 模型。MC 组和 GLP 组各成功建立模型大鼠 11 只和 12 只。

1.2 血浆生化指标检测 采用葡萄糖氧化酶法 (美国 Amersham 公司, 美国强生稳豪血糖仪) 检测 FBG、放射免疫法 (美国 Amersham 公司, BR680 型酶标仪) 检测空腹胰岛素 (FINS), 采用酶法 (英国 RANDOX 公司) 检测总胆固醇 (TC)、TG、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、FFAs, 按试剂盒说明书进行相关操作。

1.3 肝脏脂肪变程度 取大鼠肝脏最大叶距边缘 5 mm 处肝组织制成病理切片, HE 染色后光镜观察 (德国 Leica 公司, IM150 图像系统)。按照肝小叶内含脂滴细胞数/总细胞数比值将肝细胞脂肪变性分为: 无, 0 (-); 轻度,  $< 1/3$  (+); 中度,  $1/3 \sim 2/3$  (++) ; 重度,  $> 2/3$  (+++)。

1.4 脂代谢相关基因 mRNA 表达的测定 取肝组织 100 g 匀浆, 用 TRzol 试剂 (BioFlux, Japan) 提取总 RNA 后, 紫外分光光度计 (Bio-Rad 公司) 测定其浓度, 取 1  $\mu$ g 总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 应用 DNASTar 6.0 软件, Rotor-Gene 3000 Real-time PCR 仪, 根据 GenBank 大鼠脂代谢相关靶基因 - 脂肪酸合酶 (FAS)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC-a)、载脂蛋白  $\beta$ 100 (apo $\beta$ 100) mRNA 序列, 设计 PCR 引物, 见表 1。选择最适条件分别对靶基因和内参基因  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 进行 PCR 扩增, PCR 产物进行 2.5% 琼脂

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

基因	引物(5'—3')	扩增片段 (bp)
FAS	Forward: CCA AGT TCG ACG CCT CCT TTT T Reverse: ACC CAG ACG CCA GTG TTC G	154
ACC-a	Forward: GGA GGA CCC AAC AAC AAC AAT Reverse: GAT GCA ATC TTA TCC CCC AAA C	200
apoβ100	Forward: TCG AGC ACA GAT GAC CAG AGT Reverse: CTT AGA AGC CCT TGG GCA CAT	201
β-actin	Forward: TGC TGT CCC TGT ATG CCT CT Reverse: AGG TCT TTA CCG ATG TCA ACG	463

糖凝胶电泳,凝胶扫描分析系统拍照并分析电泳条带灰度值,以靶基因与 β-actin 电泳条带密度比值计算各靶基因 mRNA 相对表达量。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 19.0 软件进行数据分析。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,均经检验符合正态性,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),两两比较用 LSD-*t* 检验;肝细胞脂肪变性程度的各组比较为整体 + 分割秩和分析。检验水准取  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

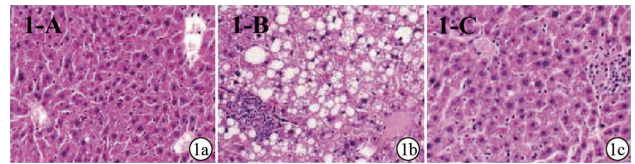
2.1 三组大鼠血糖代谢和生化指标比较 三组大鼠各血糖代谢指标和生化指标比较,差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ );且 MC 组大鼠血浆 FBG、FINS、TC、TG、LDL-C 和 FFAs 水平均高于 NC 组大鼠( $P$  均  $< 0.05$ ),HDL-C 低于 NC 组大鼠( $P < 0.05$ );GLP 组大鼠血浆 FBG、FINS、TC、TG、LDL-C 和 FFAs 水平均低于 MC 组大鼠( $P$  均  $< 0.05$ ),HDL-C 高于 MC 组大鼠( $P < 0.05$ )。见表 2。

2.2 三组大鼠肝组织学形态 NC 组大鼠肝小叶结构清晰完整,肝细胞排列规则,细胞中央有大而圆的细胞核,细胞质均匀,其内偶见脂肪滴,汇管区及小叶内无炎性细胞浸润,见图 1a。MC 组大鼠肝细胞肿

胀、体积明显变大,胞浆内充满大小不等的脂滴,并且肝小叶内及汇管区可见炎性细胞浸润,汇管区可见点片状坏死灶,肝窦狭窄,肝细胞呈气球样变,见图 1b。GLP 组大鼠肝细胞较 MC 组细胞明显缩小,部分可见小泡性脂肪变,脂肪变面积约占 4% ~ 30%,并且脂质内脂滴数量明显减少,见图 1c。

2.3 三组大鼠肝脏细胞脂肪变性情况比较 三组大鼠肝脏细胞脂肪变性程度不同,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );且 MC 组和 GLP 组大鼠肝细胞脂肪变程度均高于 NC 组( $P$  均  $< 0.05$ ),和 MC 组比较,GLP 组大鼠肝细胞脂肪变程度下降( $P < 0.05$ )。见表 3。

2.4 三组大鼠肝脏组织 FAS、ACC-a、apoβ100 mRNA 相对表达量比较 与 NC 组比较,MC 组与 GLP 组大鼠肝组织 FAS、ACC-a mRNA 相对表达量均显著升高



注:1a:NC 组;1b:MC 组;1c:GLP 组。

图 1 三组大鼠肝脏组织学形态(HE, ×400)

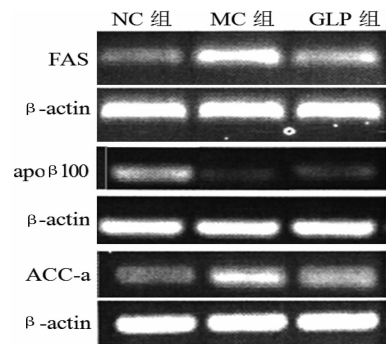


图 2 三组大鼠肝脏组织 FAS、ACC-a、apoβ100 mRNA 表达

表 2 三组大鼠血糖代谢和生化学指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	NC 组( $n = 12$ )	MC 组( $n = 11$ )	GLP 组( $n = 12$ )	F 值	P 值
FBG (mmol/L)	5.81 ± 0.43	9.12 ± 0.82 <sup>a</sup>	6.02 ± 0.68 <sup>b</sup>	89.894	0.000
FINS (μm/L)	411.08 ± 23.53	486.80 ± 26.19 <sup>a</sup>	418.43 ± 24.59 <sup>b</sup>	32.225	0.000
TC (mmol/L)	1.41 ± 0.28	2.58 ± 0.64 <sup>a</sup>	1.26 ± 0.39 <sup>b</sup>	28.534	0.000
TG (mmol/L)	0.48 ± 0.11	0.73 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.15 <sup>b</sup>	14.065	0.000
HDL-C (mmol/L)	4.66 ± 0.58	3.82 ± 0.43 <sup>a</sup>	4.54 ± 0.80 <sup>b</sup>	5.942	0.006
LDL-C (mmol/L)	1.08 ± 0.21	1.89 ± 0.32 <sup>a</sup>	1.20 ± 0.41 <sup>b</sup>	20.661	0.000
FFAs (mmol/L)	1.57 ± 0.26	2.50 ± 0.42 <sup>a</sup>	1.70 ± 0.25 <sup>b</sup>	29.208	0.000

注:与 NC 组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 MC 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 三组大鼠肝脏细胞脂肪变性情况比较 (只数)

组别	只数	无	轻度	中度	重度
NC 组	12	12	0	0	0
MC 组 <sup>a</sup>	11	0	1	2	8
GLP 组 <sup>ab</sup>	12	0	6	4	2
Hc 值		28.169			
P 值		0.000			

注:与 NC 组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 MC 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 4 三组大鼠肝脏组织 FAS、ACC-a、apoβ100 mRNA

相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数	FAS mRNA /β-actin	ACC-a mRNA /β-actin	apoβ100 mRNA /β-actin
NC 组	12	0.21 ± 0.08	0.29 ± 0.09	0.53 ± 0.15
MC 组	11	0.83 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.84 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.09 <sup>a</sup>
GLP 组	12	0.31 ± 0.07 <sup>ab</sup>	0.38 ± 0.06 <sup>ab</sup>	0.32 ± 0.13 <sup>ab</sup>
F 值		138.349	182.400	24.182
P 值		0.000	0.000	0.000

注:与 NC 组相比,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与 MC 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.01$ 。

( $P$  均  $< 0.01$ ); GLP 组 FAS、ACC-a mRNA 相对表达量明显低于 MC 组大鼠 ( $P$  均  $< 0.01$ ); MC 组与 GLP 组大鼠肝组织 apo $\beta$ 100 mRNA 相对表达量均低于 NC 组 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 但 GLP 组高于 MC 组 ( $P < 0.01$ )。见表 4、图 2。

### 3 讨论

T2DM 及 NAFLD 的发生常与高血脂、IR、肥胖有关, 至今, NAFLD 的发病机制尚未完全阐明, 较为成熟的是 Day 和 James 在 1998 年提出的“二次打击”学说<sup>[4-5]</sup>。第一次打击是引起 NAFLD 的首发原因, 包括各种原因导致的脂质代谢紊乱, 使过多的脂质在肝细胞内沉积; 第二次打击是以 IR 和氧化应激脂质过氧化为核心, 促使脂肪变的肝脏发生炎症坏死和纤维化<sup>[6]</sup>。脂肪肝的形成和发展常伴随肝脏糖脂代谢的异常, 极低密度脂蛋白 (VLDL) 分泌减少和脂肪酸合成增加<sup>[7]</sup>。apo $\beta$ 100 是肝脏合成和分泌富含 TG 的 VLDL 所必需的载脂蛋白, VLDL 形成于肝脏, 能转运输出肝脏合成的 TG, apo $\beta$ 100 影响和制约着肝细胞合成和分泌 VLDL, 引起肝脏脂质积累。毛刘峰等<sup>[8]</sup>研究表明, 18 周龄高脂饮食 T2DM 小鼠肝脏 EDEMI mRNA 表达增加, apo $\beta$ 100 基因表达量降低, 表明 T2DM 小鼠脂肪肝形成过程中存在肝脏内质网相关性降解增强, 导致 apo $\beta$ 100 合成和分泌的减少, 加速脂肪肝形成。

FAS 与 ACC-a 是脂肪酸代谢过程中的关键酶, 参与许多脂质代谢的重要生理过程<sup>[9-10]</sup>。研究发现, 高脂喂养大鼠 12 周, 肝脏 FAS 和 ACC-a 基因在 mRNA 及蛋白质水平均显著升高, 形成 NAFLD<sup>[11]</sup>。

利拉鲁肽作为一种广泛应用于 T2DM 治疗的新型降糖药物, 对改善脂代谢及糖尿病血管病变具有重要作用, 本研究第一部分结果亦揭示, 利拉鲁肽对高糖高脂联合小剂量 STZ 诱导的 T2DM 大鼠, 不仅改善其血糖、血脂的水平, 并对大鼠的肝功能、肝脏脂肪变亦有保护作用。本研究进一步探讨其脂质代谢紊乱的发生机制发现, 作为 T2DM 模型的 MC 组大鼠肝组织 FAS、ACC-a mRNA 相对表达量较正常 NC 组显著上调, 而给予利拉鲁肽治疗的 GLP 组明显抑制了上述指标的表达; MC 组大鼠肝组织 apo $\beta$ 100 mRNA 相对表达量较 NC 组显著下调, 但 GLP 则提高了 apo $\beta$ 100 mRNA 的表达。有研究显示, GLP-1 可通过增加肝脏 ApoE 蛋白的表达或上调脂联素水平, 显著降低 TG、TC 水平, 减少 LDL 的合成<sup>[12-13]</sup>。且有研究揭示利拉鲁肽可能通过调节肝脏脂肪代谢关键酶的表达水平, 从而减少脂质在肝脏的蓄积<sup>[14-15]</sup>。

综上所述, 本研究结果表明, 利拉鲁肽可能通过下调脂代谢相关基因的表达, 从而改善脂质代谢紊乱, 减缓 NAFLD 发病的进程, 因而可对 T2DM 合并 NAFLD 的防治起到一定的作用。

### 参考文献

- [1] Yang WY, Lu JM, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. *N Eng J Med*, 2010, 362(12): 1090.
- [2] Al Khaldi R, Mojiminiyi O, AlMulla F, et al. Associations of TERC Single Nucleotide Polymorphisms with Human Leukocyte Telomere Length and the Risk of Type 2 Diabetes Mellitus [J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0145721.
- [3] Lorenzi M, Ploug UJ, Vega G, et al. Liraglutide vs Other Daily GLP-1 Analogues in People with Type 2 Diabetes: A Network Meta-Analysis [J]. *Value Health*, 2015, 18(7): A598 - A599.
- [4] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 842 - 845.
- [5] Su Q, Tsai J, Xu E, et al. Apolipoprotein B100 acts as a molecular link between lipid-induced endoplasmic reticulum stress and hepatic insulin resistance [J]. *Hepatology*, 2009, 50(1): 77 - 84.
- [6] 李小山, 何松. ChREBP 及其靶基因在高脂大鼠非酒精性脂肪肝中的表达 [J]. *重庆医学*, 2011, 40(21): 2125 - 2127.
- [7] Rasinen K, Casey CA. Molecular mechanism of alcoholic fatty liver [J]. *Indian J Pharmacol*, 2012, 44(3): 299 - 303.
- [8] 毛刘锋, 姜小伟, 秦艳, 等. 内质网应激对 2 型糖尿病小鼠脂肪肝发生的影响 [J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(1): 4 - 10.
- [9] Qiu W, Kohen-Avramoglu R, Mhapsekar S, et al. Glucosamine-induced endoplasmic reticulum stress promotes ApoB100 degradation: evidence for Grp78-mediated targeting to proteasomal degradation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(3): 571 - 577.
- [10] Ota T, Gayet C, Ginsberg HN. Inhibition of apolipoprotein B100 secretion by lipid-induced hepatic endoplasmic reticulum stress in rodents [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(1): 316 - 332.
- [11] Barb D, Portillo-Sanchez P, Cusi K. Pharmacological management of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Metabolism*, 2016, 65(8): 1183.
- [12] He Q, Sha S, Sun L, et al. GLP-1 analogue improves hepatic lipid accumulation by inducing autophagy via AMPK/mTOR pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 476(4): 196 - 203.
- [13] Rizvi AA, Patti AM, Giglio RV, et al. Liraglutide improves carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease: an 8-month prospective pilot study [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(10): 1391 - 1397.
- [14] Cuthbertson DJ, Irwin A, Gardner CJ, et al. Improved glycaemia 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): e50117.
- [15] 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, 2012: 496453.