

基础研究

重组慢病毒介导 *LXR α* RNA 干扰改善大鼠脂肪肝供肝移植术后的功能

赵英鹏, 李 立, 马菁璠, 陈 刚, 白建华

昆明市第一人民医院暨昆明医科大学附属甘美医院肝胆胰外科, 云南 昆明 650011

摘要:目的 探讨 *LXR α* RNA 干扰(RNAi)改善脂肪肝供肝大鼠肝移植术后肝功能的作用及机制。方法 50 只 SD 大鼠, 给予高脂饲料和 56% 的酒精喂养, 诱导成平均脂变程度大于 60% 的脂肪肝作为肝移植供体。实验组 25 只脂肪肝供体大鼠在移植前 72 h 自门静脉注射 7×10^7 TU *LXR α* -RNAi 的慢病毒混悬液(*LXR α* -RNAi-LV), 对照组 25 只脂肪肝供体大鼠移植前 72 h 自门静脉接受阴性对照慢病毒(NC-LV)载体液注射。受体大鼠均接受原位肝移植术。术后检测肝酶学、组织切片、TUNEL、细胞因子、组织蛋白及 RT-PCR 水平。结果 *LXR α* -RNAi-LV 治疗组与对照组相比较, 术后移植肝肝细胞内脂肪酸蓄积明显受到抑制, 肝酶学及肝组织损伤相关细胞因子水平明显下降, 组织损伤较轻, 大鼠平均生存率提高。RT-PCR 示实验组 *LXR α* mRNA 水平明显低于对照组, Western blotting 提示 *LXR α* , SREBP-1c, CD36 表达明显低于对照组。结论 *LXR α* -RNAi-LV 基因治疗能明显降低 *LXR α* 基因的表达, 改善脂肪肝供肝大鼠肝移植术后肝功能、提高生存率。

关键词: 脂肪肝; 肝移植; *LXR α* ; RNA 干扰; 缺血再灌注损伤

Lentiviral-mediated RNA interference of *LXR α* gene in donor rats with fatty liver enhances liver graft function after transplantation

ZHAO Yingpeng, LI Li, MA Jingpan, CHEN Gang, BAI Jianhua

Department of Hepatobiliary and Transplantation Surgery, Ganmei Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650011, China

Abstract: Objective To investigate whether RNA interference (RNAi) of *LXR α* gene in donor rats with fatty liver improves liver graft function after transplantation. **Methods** Fifty donor SD rats were fed a high-fat diet and 56% alcohol to induce macrovesicular steatosis exceeding 60% in the liver. The donor rats were injected via the portal veins with 7×10^7 TU *LXR α* -RNAi-LV mixture ($n=25$) or negative control-LV (NC-LV) vector ($n=25$) 72 h before orthotopic liver transplantation. At 2, 24, and 72 h after the transplantation, the recipient rats were sacrificed to examine liver transaminases, liver graft histology, immunostaining (TUNEL), and protein and mRNA levels of *LXR α* . **Results** Lentivirus-*LXR α* RNAi inhibited *LXR α* gene expression at both the mRNA and protein levels in the liver graft and reduced the expressions of SREBP-1c and CD36 as compared with the controls, resulting also in reduced fatty acid accumulation in the hepatocytes. The recipient rats receiving RNAi-treated grafts showed more obvious reduction in serum ALT, AST, IL-1 β and TNF- α levels, and exhibited milder hepatic pathologies than the control rats after the transplantation. TUNEL assay demonstrated a significant reduction in cell apoptosis in *LXR α* -RNAi-LV-treated liver grafts, and the rats receiving treated liver grafts had a prolonged mean overall survival time. **Conclusion** *LXR α* -RNAi-LV treatment of the donor rats with fatty liver can significantly down-regulate *LXR α* gene expression in the liver graft and improve the graft function and recipient rat survival after liver transplantation.

Key words: fatty liver; liver transplantation; *LXR α* ; RNA interference; ischemia-reperfusion injury

肝移植(OLT)是治疗终末期肝病的最有效方法。然而,供体器官的短缺使得对“边缘供体”的使用越来越多,如脂肪肝供体。这类供体自身抗打击能力较弱,冷保存及缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion, I/R)容易导致移植后器官功能低下^[1-3]。在大多数移植中心,将

脂肪肝供体可使用标准定为脂肪变性程度低于 30%^[4]。肝 X 受体 α (*LXR α*)是肝 X 受体 (*LXR*s)即核受体超家族中的一员,他们是一些可通过结合配体而激活的转录因子,可以被氧化的胆固醇衍生物激活。*LXR α* 可通过激活脂调节元件结合蛋白(SREBP-1c)而在脂肪酸代谢中发挥重要的作用^[5]。据报道,在非酒精性脂肪肝患者的肝脏中,*LXR α* 和 SREBP-1c 的表达明显上调^[6]。Nakamuta 等发现,当细胞、组织内甘油三酯及其他脂类蓄积时, SREBP-1c 作为脂肪酸代谢的主要调节因子,其表达也是明显增强的^[7]。另外,*LXR α* 还与促进脂肪酸摄取的转

收稿日期:2014-03-19

基金项目:昆明市重点科学基金(09H130201)

作者简介:赵英鹏,在读博士研究生,E-mail: prisoner33230393@hotmail.com

通信作者:李 立,教授,博士生导师,E-mail: ynkmlili62@hotmail.com

移酶CD36关系密切。另有学者发现,降低体外培养脂肪肝细胞L02中LXR α 的表达可有效减少肝细胞中甘油三酯的总量,提高脂肪肝细胞的自我修复能力^[8]。脂肪肝供体易导致肝移植后原发性移植物无功能(PNF)的主要机制目前尚不清楚,可能包括以下几方面^[9]:①肝细胞脂肪变性程度和肝血窦血流量成反比,脂肪在肝细胞内聚集,引起细胞体积增大,部分或全部阻塞了肝血窦,增加了血流阻力,造成脂变肝细胞相对缺血,从而更进一步增加了对缺氧及缺血-再灌注损伤的敏感性;②肝血窦内皮细胞受损,影响质膜流动,产生大量细胞因子,加上脂肪酸释放激活了磷脂酶和脂质过氧化反应,使氧自由基大量产生,进一步增加肝细胞受损;③在热缺血及冷保存过程中的乏氧代谢,使得脂肪肝线粒体中ATP生成和储存能力下降,使得脂肪肝易受缺血损伤。因此,为了减轻脂肪肝供体对缺血-再灌注损伤的敏感性,提高移植物功能,不仅要提高供体抗打击能力,更要在短时间内减少脂肪酸在肝细胞中的蓄积,从源头上降低细胞损伤。

本实验将建立与临床类似的大鼠脂肪肝供体肝移植模型^[10-15],通过使用LXR α 的RNA干扰来下调其mRNA的表达,目的就是在短时间内减少肝细胞内脂肪酸的蓄积,减少自由脂肪酸数量,探讨是否能由此来提高脂肪肝供体肝移植大鼠移植后的肝功能。

1 材料和方法

1.1 材料

雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠100只,体质量90~150 g,由昆明医科大学动物实验中心提供。实验动物许可证号:SYXK(滇)2011-0006。ELISA试剂盒购自Bender MedSystems公司(奥地利);TUNEL试剂盒购自Intergen公司(美国);LXR α ,SREBP-1c和CD36抗体购自Proteintech Group公司(美国);TRIzol试剂购自Invitrogen公司(美国);M-MLV逆转录反应体系购自Promega公司(美国)。

1.2 方法

1.2.1 LXR α -RNAi慢病毒载体构建 在Genebank中查到大鼠LXR α 基因序列(NM-013627.2),参照RNAi设计原则,设计一条LXR α -RNAi靶序列(5'-GGA GTG TGT CTT ATC AGA A-3'),合成RNAi,转录模板如下:正义链:5'-CCG GGA GGA GTG TGT CTT ATC AHA ACT CGA GTT CTG ATA AGA CAC ACT CCT CTT TTT G-3';反义链:5'-AAT TCA AAA AGA GGA GTA TAT CTT ATC AGA ACT CGA GTT CTG ATA AGA CAC ACT CCT C-3'。慢病毒载体质粒为GV115:hU6-MCS-CMV-EGFP。RNAi由上海吉凯基因公司合成,简称LXR α -RNAi-LV,包装成慢病毒载体颗粒,同时制备阴性对照的慢病毒载体(NC-LV)。

1.2.2 模型建立 供体大鼠50只给予高脂饲料(含猪油20%、胆固醇2%及基础饲料78%)喂养,同时用56%酒精灌胃(10 ml/kg·d),4周后,诱导大鼠肝脏形成脂肪肝,病理组织学检测脂肪变性程度 $\geq 60\%$ (图1)。另50只体质量年龄相仿的同系SD大鼠作为原位肝移植受体。实验分为两组,实验组:脂肪肝供体大鼠在肝移植手术前72 h从肠系膜上静脉一分支接受注射携带LXR α -RNAi的慢病毒载体液(7×10^7 TU/ml)和感染增效剂polybrene的混合液1 ml入门静脉;对照组:脂肪肝供体大鼠经同样的途径在术前72 h接受注射阴性对照慢病毒载体液(NC-LV)1 ml入门静脉。两组大鼠均采用“双袖套法”^[16]建立大鼠同种异体原位肝移植模型,术后2、24及72 h每组分别处死5只大鼠,经腹主动脉取血,3500 r/min离心10 min,收集血清检测肝酶学、血脂,ELISA法检测IL-1 β 、TNF- α 水平;部分肝组织制成匀浆后检测组织内甘油三酯含量。

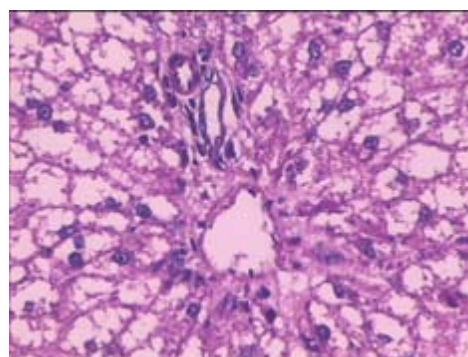


图1 大泡型脂肪变性肝供体(脂肪变性程度 $\geq 60\%$)

Fig.1 Bullous steatotic liver graft (steatosis $\geq 60\%$).

1.2.3 病理组织学及TUNEL染色观察 取肝组织标本常规脱水、石蜡包埋制作切片。HE染色显示肝小叶形态学变化,根据Suzuki^[17]对肝移植模型肝组织I/R损伤的评估标准进行分析,依据窦状内皮细胞肿胀、肝细胞坏死和气球样变3个指标的不同病变程度分为五级。无坏死、充血和小叶气球样变得分为0分,极轻微病变(0%~10%)1分,轻度病变(11%~30%)2分,中度病变(31%~60%)3分,重度病变($>60\%$)4分;切片用二甲苯脱蜡、乙醇亲水性预处理后,根据TUNEL试剂盒步骤进行染色。

1.2.4 Western blot测定LXR α 、SREBP-1c及CD36的表达 肝组织从液氮中取出,研磨成粉末,取蛋白裂解液裂解组织,4℃离心,取总蛋白进行SDS-PAGE分离,蛋白转移至PVDF膜,印迹膜用5%脱脂牛奶室温封闭后分别加入一抗、二抗孵育,ECL试剂发光显影。扫描图片后用Bio-Gel图像系统计算各条带的荧光强度值及其与GAPDH的比值。实验重复3次。

1.2.5 *LXRα* RT-PCR 检测 取各组大鼠肝脏组织,液氮碾磨成粉状后,按 Trizol 试剂盒步骤提取总 RNA,采用 M-MLV 逆转录试剂盒合成 cDNA,RT-PCR 检测干扰后和阴性对照组中 *LXRα* 表达水平,以 GAPDH 为内参。引物: 5'-GTACAACCCTGGGAGTGAGA-3'; 5'-GGT TGATGGAGACATAGGCA-3'。相对基因表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析法进行分析。

1.2.6 统计学分析 数据采用 SPSS 13.0 进行分析,以均数 $\pm$ 标准差表示,两组间比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病理组织学检查及 TUNEL 染色结果

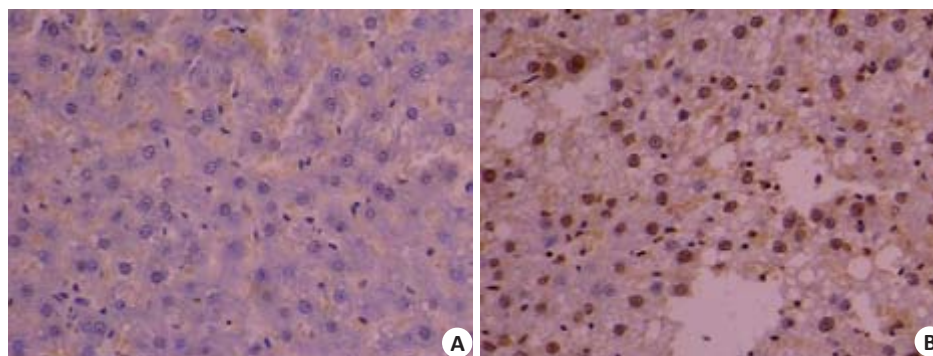


图2 肝移植术后24 h TUNEL 染色法检测肝组织细胞凋亡情况

Fig.2 TUNEL staining showing cell apoptosis in the liver graft at 24 h after OLT. Fewer positively stained hepatocytes were observed in *LXRα*-RNAi-LV-treated rats than in NC-LV-treated rats (B) ($P < 0.05$).

2.2 生化学检查

两组肝酶值均升高,在2 h时两组肝酶值无差别,24 h后实验组升高幅度明显低于对照组($P < 0.05$,图

3)。而外周血血脂情况两组无差异(图4)。肝组织内甘油三酯(TG)含量在各时间点实验组明显低于对照组(表1)。

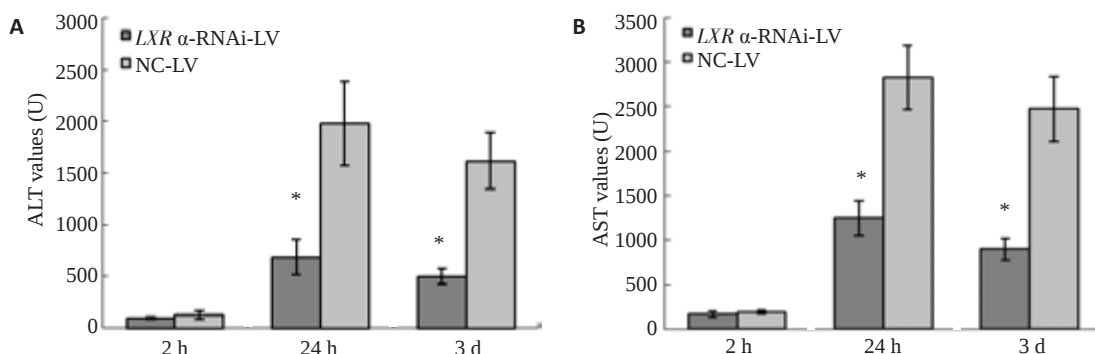


图3 ALT(A)和AST(B)在不同时间点的变化

Fig.3 ALT (A) and AST (B) levels at different time points after OLT. * $P < 0.05$ vs NC-LV group.

2.3 肝移植后细胞因子的变化

通过ELISA法检测IL-1 β 和TNF- α ,2h时两因子升高幅度实验组低于对照组(图5),24 h后两组差异更明

显,有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 Western blot和 *LXRα* RT-PCR 检测结果

术后24 h移植肝组织内 *LXRα* 蛋白相对表达水平,

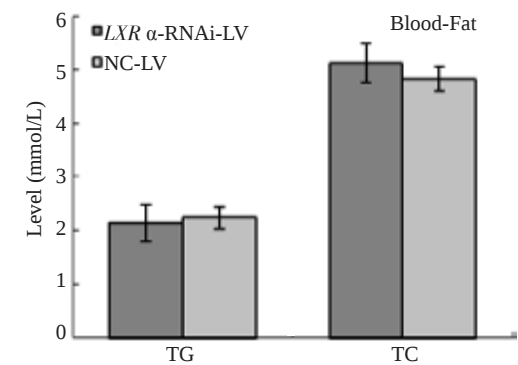


图4 两组大鼠术后外周血TG和TC水平无差异
Fig.4 TG and TC levels in the two groups 24 h after the operation.

表1 两组大鼠术后受体肝组织内TG含量
Tab.1 TG content in the liver homogenates in the groups (Mean±SD, mmol/L)

	LXRα-RNAi-LV (n=5)	NC-LV (n=5)
2 h	1.58±0.27*	2.57±0.97
24 h	1.23±0.21*	3.12±1.08

**P*<0.05 vs NC-LV group.

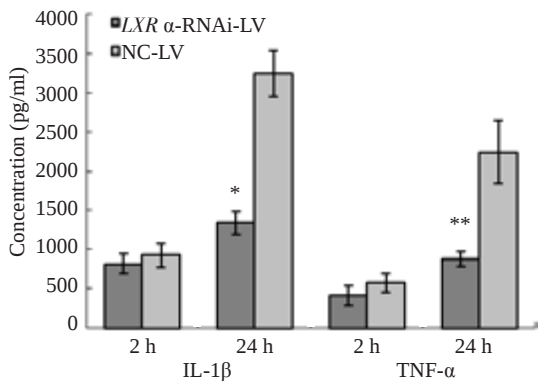


图5 用ELISA法所测TNF-α和IL-1β值
Fig.5 Serum TNF-α and IL-1β levels in the two groups at 2 and 24 h after OLT. **P*=0.0023, ***P*=0.0017 vs NC-LV group.

实验组 0.5082 ± 0.08232 和对照组 1.0850 ± 0.12116 , $P=0<0.05$;同时,肝组织CD36和SREBP-1c蛋白相对表达水平,实验组明显低于对照组($P<0.05$,图6)。RT-PCR定量检测 *LXRα* mRNA表达水平,实验组较对照组明显下调(0.532 ± 0.030 和 0.937 ± 0.020 ; $P=0.00012$)。

2.5 肝移植受体大鼠生存时间

所有移植大鼠术后存活均超过2 h,累计受体存活时间,实验组较对照组有明显提高($P=0.045$,图7)。

3 讨论

边缘供体的使用成为当今解决肝移植供体短缺的方法之一^[18]。有研究证实,脂肪肝供体与正常肝供体在肝移植时发生I/R损伤的特点有所不同,脂肪肝供体在

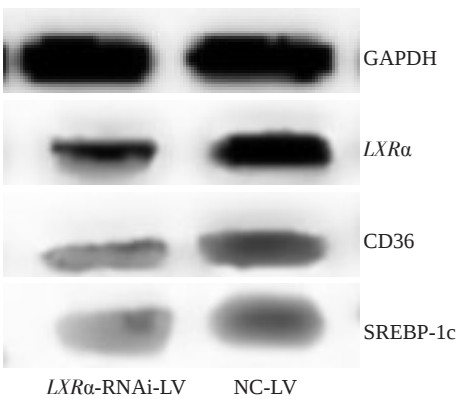


图6 肝移植术后24 h,实验组和对照组大鼠受体肝内*LXRα*、CD36和SREBP-1c的蛋白表达情况
Fig.6 Western blot analysis of the protein levels in the liver grafts 24 h after OLT showing significantly inhibited *LXRα*, CD36, and SREBP-1c gene expressions in *LXRα*-RNAi-LV group compared with those in NC-LV group ($P<0.05$).

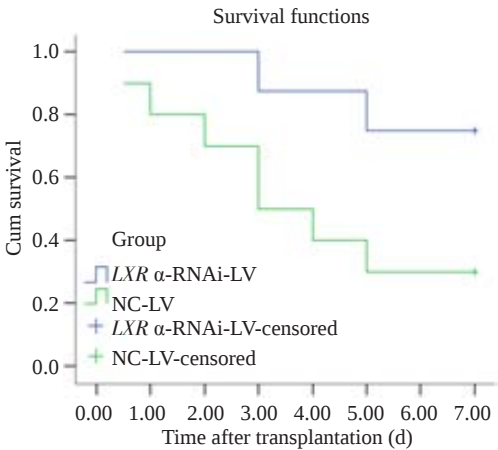


图7 两组受体大鼠各10只术后生存时间分析对比
Fig.7 Kaplan-Meier analysis showing significantly longer survival of the rats in *LXRα*-RNAi-LV group than in NC-LV group ($P<0.05$).

I/R损伤中表现为严重组织坏死,肝组织再生能力削弱,而正常肝供体主要表现为以凋亡为主的病变,肝组织再生良好,这也是脂肪肝供体肝移植术后较容易导致PNF的原因^[19-20]。而究其根本,是由于脂肪肝肝细胞内脂类的大量蓄积,为了在短时间内减轻脂类物质在肝细胞类的堆积,我们选择了与肝内脂肪酸代谢密切正相关的*LXRα*基因,选用慢病毒载体携带其RNAi来下调该基因的表达,最终达到减轻肝组织脂肪蓄积,保护移植植物功能的目的。本研究数据显示,慢病毒载体携带的*LXRα*-RNAi的基因治疗能减轻脂肪肝供肝大鼠肝移植术后I/R损伤、提高移植肝功能、延长受体大鼠存活时间。肝移植术后24 h,实验组肝脏酶学水平明显地低于对照组,病理切片也提示实验组大鼠肝组织损伤明显较轻,且脂肪浸润程度明显好转,实测肝组织内TG含量确

实低于对照组,而外周血两组血脂水平无差别,说明 *LXR α* -RNAi 转染后,可能仅减少了肝组织内局部的脂肪堆积,减轻了肝血窦的阻塞,从而改善了肝小叶血运,提高了肝细胞抵御损伤的能力。而组织细胞活力的提升,将大大减少氧自由基的产生,这也是移植物受损、功能低下及生存率降低的重要因素^[21]。而RNAi的转染并未改善受体的高血脂状态。

在本研究中,我们发现实验组大鼠移植肝内 *LXR α* mRNA 和组织蛋白表达水平均明显下调,同时 SREBP-1c 蛋白水平也明显下调。有报道称SREBP-1c的阳性表达是通过以 *LXR α* 为主的转录因子调节实现的^[22]。而肝组织内脂肪酸的大量合成又主要通过SREBP-1c的调节实现^[23]。上调SREBP-1c的表达将增加脂肪酸的从头合成及肝细胞内的脂肪蓄积^[24]。因此, *LXR α* RNAi 通过下调 *LXR α* mRNA 的表达来下调SREBP-1c表达,可能就是其降低肝细胞脂变水平的原因之一。另外,实验组中,CD36的蛋白水平也明显下调。包括CD36/FAT在内的细胞表面受体是促进肝脏摄取脂肪酸的主要因子,CD36的过表达将使组织更多地摄取和利用脂肪酸及脂蛋白^[25]。而CD36也被证明受到 *LXR α* 这类核受体的调节。近来有报道显示 *LXR* 可以通过激活CD36的表达来提高组织脂肪生成^[26]。更有研究证实CD36的完整表达和激活是脂肪变性所必需的部分^[27]。因此, *LXR α* 基因的有效沉默也抑制了CD36因子的表达,从而减轻肝组织内的脂肪蓄积。

TUNEL 和H&E 染色切片均观察到了实验组肝组织较对照组有明显较少的凋亡和坏死情况。有报道说,TUNEL并不能特异地将细胞凋亡和坏死相区分^[28],然而,对于本实验来说,其检测结果对实验效果并不影响。因为二者均为脂肪肝在I/R损伤中的的细胞病变形式。有报道证实CD36的过表达在大鼠非酒精性脂肪肝肝炎中将激活细胞死亡受体并诱导凋亡^[29-31]。也有报道称CD36可能为凋亡启动因子^[32]。因此, *LXR α* -RNAi-LV 基因治疗有可能通过下调CD36的表达来减少移植肝肝细胞潜在的凋亡和坏死。

组织I/R损伤的程度通常可以通过诸如TNF- α 和IL-1 β 这类细胞因子来反映。这两个细胞因子在I/R中将被广泛激活并造成组织损伤,它们诱导中性粒细胞与组织内皮细胞的相互作用导致局部微循环障碍^[33]。而本实验中TNF- α 和IL-1 β 表达的明显下降也在减轻组织缺血再灌注损伤中发挥了重要作用。

综上所述, *LXR α* -RNAi-LV 的基因治疗,不仅提高了脂肪肝供肝移植大鼠受体术后肝脏的功能,更重要的是延长了受体的存活时间,说明该治疗手段可以提高脂肪变性边缘供肝在大鼠中的使用率和成功率,这也为我们进一步地探索人类脂肪肝供肝的使用提供了实验

基础。

参考文献:

- [1] Amin MG, Wolf MP, Tenbrook JA, et al. Expanded criteria donor grafts for deceased donor liver transplantation under the MELD system: a decision analysis [J]. Liver Transpl, 2004, 10 (12): 1468-75.
- [2] Merion RM, Schaubel D, Dykstra DM, et al. The survival benefit of liver transplantation[J]. Am J Transplant, 2005, 5(2): 307-13.
- [3] Schaubel DE, Sima CS, Goodrich NP, et al. The survival benefit of deceased donor liver transplantation as a function of candidate disease severity and donor quality[J]. Am J Transplant, 2008, 8(2): 419-25.
- [4] Brandhagen D, Fidler J, Rosen C. Evaluation of the donor liver for living donor liver transplantation [J]. Liver Transpl, 2003, 9 (10 suppl 2): S16-28.
- [5] Liu Y, Chang YS, Fang FD. Liver X receptor: crucial mediator in lipid and carbohydrate metabolism [J]. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao, 2007, 29(3): 430-5.
- [6] Higuchi N, Kato M, Shundo Y, et al. Liver X receptor in cooperation with SREBP-1c is a major lipid synthesis regulator in nonalcoholic fatty liver disease [J]. Hepatol Res, 2008, 38 (11): 1122-9.
- [7] Nakamuta M, Fujino T, Yada R, et al. Impact of cholesterol metabolism and the LXRalpha-SREBP-1c pathway on nonalcoholic fatty liver disease[J]. Int J Mol Med, 2009, 23(5): 603-8.
- [8] 陈少兵, 杨钦和, 张玉佩, 等. 三七总皂甙对脂肪变性L02肝细胞TG含量及 *LXR α* mRNA 表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26 (6): 1151-5.
- [9] Zhong Z, Lemasters JJ. Role of free radicals in failure of fatty liver grafts caused by ethanol[J]. Alcohol, 2004, 34(1): 49-58.
- [10] Arnault I, Bao YM, Sebah M, et al. Beneficial effect of pentoxifylline on microvesicular steatotic livers submitted to a prolonged cold ischemia[J]. Transplantation, 2003, 76(1): 77-83.
- [11] Chavin KD, Fiorini RN, Shafizadeh S, et al. Fatty acid synthase blockade protects steatotic livers from warm ischemia reperfusion injury and transplantation[J]. Am J Transplant, 2004, 4(9): 1440-7.
- [12] Lehmann TG, Wheeler MD, Froh M, et al. Effects of three superoxide dismutase genes delivered with an adenovirus on graft function after transplantation of fatty livers in the rat [J]. Transplantation, 2003, 76(1): 28-37.
- [13] Selzner N, Selzner M, Jochum W, et al. Mouse livers with macrosteatosis are more susceptible to normothermic ischemic injury than those with microsteatosis [J]. J Hepatol, 2006, 44(4): 694-701.
- [14] Selzner N, Selzner M, Jochum W, et al. Ischemic preconditioning protects the steatotic mouse liver against reperfusion injury: an ATP dependent mechanism[J]. J Hepatol, 2003, 39(1): 55-61.
- [15] Soejima Y, Shimada M, Suehiro T, et al. Use of steatotic graft in living-donor liver transplantation[J]. Transplantation, 2003, 76(2): 344-8.
- [16] Oldani G, Maestri M, Gaspari A, et al. A novel technique for rat liver transplantation using Quick Linker system: a preliminary result [J]. J Surg Res, 2008, 149(2): 303-9.

- [17] Suzuki S, Toledo-Pereyra LH, Rodriguez FJ, et al. Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine [J]. Transplantation, 1993, 55(6): 1265-72.
- [18] Angele MK, Rentsch M, Hartl WH, et al. Effect of graft steatosis on liver function and organ survival after liver transplantation [J]. Am J Surg, 2008, 195(2): 214-20.
- [19] Selzner M, Rüdiger HA, Sindram D, et al. Mechanisms of ischemic injury are different in the steatotic and normal rat liver [J]. Hepatology, 2000, 32(6): 1280-8.
- [20] Selzner M, Clavien PA. Failure of regeneration of the steatotic rat liver: disruption at two different levels in the regeneration pathway [J]. Hepatology, 2000, 31(1): 35-42.
- [21] Lehmann TG, Wheeler MD, Schwabe RF, et al. Gene delivery of Cu/Zn-superoxide dismutase improves graft function after transplantation of fatty livers in the rat [J]. Hepatology, 2000, 32(6): 1255-64.
- [22] Chen G, Liang G, Ou J, et al. Central role for liver X receptor in insulin-mediated activation of Srebp-1c transcription and stimulation of fatty acid synthesis in liver [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(31): 11245-50.
- [23] Wójcicka G, Jamroz-Wiśniewska A, Horoszewicz K, et al. Liver X receptors (LXRs). Part I: structure, function, regulation of activity, and role in lipid metabolism [J]. Postepy Hig Med Dosw, 2007, 61: 736-59.
- [24] Nakamuta M, Kohjima M, Morizono S, et al. Evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease [J]. Int J Mol Med, 2005, 16(4): 631-5.
- [25] He J, Lee JH, Febbraio M, et al. The emerging roles of fatty acid translocase/CD36 and the aryl hydrocarbon receptor in fatty liver disease [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2011, 236 (10):1116-21.
- [26] Zhou J, Febbraio M, Wada T, et al. Hepatic fatty acid transporter Cd36 is a common target of LXR, PXR, and PPARgamma in promoting steatosis [J]. Gastroenterology, 2008, 134(2): 556-67.
- [27] Febbraio M, Abumrad NA, Hajjar DP, et al. A null mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism [J]. J Biol Chem, 1999, 274(27): 19055-62.
- [28] Grasl-Kraupp B, Ruttkay-Nedecky B, Koudelka H, et al. In situ detection of fragmented DNA (TUNEL assay) fails to discriminate among apoptosis, necrosis, and autolytic cell death: a cautionary note [J]. Hepatology, 1995, 21(5): 1465-8.
- [29] Ito M, Suzuki J, Tsujioka S, et al. Longitudinal analysis of murine steatohepatitis model induced by chronic exposure to high-fat diet [J]. Hepatol Res, 2007, 37(1): 50-7.
- [30] Hammamieh R, Chakraborty N, Barmada M, et al. Expression patterns of fatty acid binding proteins in breast Cancer cells [J]. J Exp Ther Oncol, 2005, 5(2): 133-43.
- [31] Nourani MR, Owada Y, Kitanaka N, et al. Occurrence of immunoreactivity for adipocyte-type fatty acid binding protein in degenerating granulosa cells in atretic antral follicles of mouse ovary [J]. J Mol Histol, 2005, 36(8/9): 491-7.
- [32] Susztak K, Ciccone E, McCue P, et al. Multiple metabolic hits converge on CD36 as novel mediator of tubular epithelial apoptosis in diabetic nephropathy [J]. PLoS Med. 2005; 2: e45.
- [33] Menger MD, Richter S, Yamauchi J, et al. Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury [J]. Hepatogastroenterology, 1999, 46(Suppl 2): 1452-7.

(编辑:吴锦雅)