

冷雪,李阳. TMAO 对脾虚高脂血症大鼠脂代谢的影响及香砂六君子汤的干预作用 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(10): 1261-1270.

Leng X, Li Y. Effect of TMAO on lipid metabolism in spleen-deficiency hyperlipemia rats and the therapeutic effect of Xiangsha Liujunzi Decoction [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(10): 1261-1270.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.10.003

TMAO 对脾虚高脂血症大鼠脂代谢的影响及香砂六君子汤的干预作用

冷雪^{1*}, 李阳²

(1. 辽宁中医药大学中西医结合学院, 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学实验动物医学与科学学院, 沈阳 110847)

【摘要】 目的 本研究拟探讨肠道菌群代谢物 TMAO 对脾虚高脂血症大鼠肝脂质代谢的影响, 并进一步探讨香砂六君子汤干预肝脂质代谢紊乱的可能机制。**方法** SD 大鼠分为: 空白对照组 (C 组); 空白对照组 + DMB (C + D 组), DMB 为 TMAO 抑制剂; 脾虚高脂血症组 (PG 组); 脾虚高脂血症 + DMB 组 (PG + D 组); 脾虚高脂血症 + 香砂六君子汤组 (PG + XS 组)。除 C 组、C + D 组外各组构建以劳倦过度和高脂饲料相结合建立脾虚高脂血症模型 (造模 12 周), 模型建立后 C + D 组、PG + D 组每天饮用水中给予 1% DMB, PG + XS 组每天灌胃香砂六君子汤 (每天 11.34 g 生药/kg), 其余给予等量生理盐水, 4 周后进行取材检测。全自动生化仪检测大鼠血脂含量; HE 染色、油红 O 染色观察大鼠肝变化及脂质沉积情况; ELISA 法检测大鼠肝 FFA 变化; 试剂盒法检测各组大鼠 TG、TC 含量; LC-MS 法检测大鼠血浆 TMAO 含量; qRT-PCR 法检测大鼠肝 PERK、FOXO1、SREBP-2、ABCA1、miR-33 mRNA 相对表达水平; Western Blot 检测大鼠肝 SREBP-2、ABCA1 蛋白表达。**结果** (1) PG 组大鼠血清中 TC、TG 和 LDL-C 含量较 C 组升高明显, HDL-C 含量较 C 组下降显著; PG 大鼠肝组织中 FFA、TG、TC 含量较 C 组增加显著; 肝脂质沉积较 C 组加深, 脂肪空泡数量大幅度增加; 以上指标中 C + D 组较 C 组比较无显著性差异; PG + D 组、PG + XS 组与 PG 组相比可显著降低大鼠血清中 TC、TG 和 LDL-C 含量, 升高 HDL-C 含量, 降低肝组织中 FFA、TG、TC 含量, 缓解肝组织脂质沉积现象, 减少肝空泡; PG + D 组与 PG + XS 组之间比较无显著性差异。(2) 与 C 组比较, PG 组大鼠血浆中 TMAO 含量增加显著, 肝 PERK 和 FOXO1、miR-33a mRNA 相对含量明显增加, 肝 SREBP-2、ABCA1 mRNA 和蛋白表达均降低显著; 以上指标中 C + D 组较 C 组比较无显著性差异; PG + D 组及 PG + XS 组与 PG 组相比可显著降低大鼠血浆中 TMAO 含量, 降低肝 PERK 和 FOXO1、miR-33a mRNA 表达, 升高肝 SREBP-2、ABCA1 基因 mRNA 和蛋白表达; PG + D 组与 PG + XS 组之间无显著性差异。**结论** TMAO 可能通过 PERK/FOXO1 轴调控 SREBP-2/miR-33a/ABCA1 信号通路引起大鼠肝脂代谢紊乱, 香砂六君子汤可能通过抑制 TMAO 含量达到抑制肝脂代谢紊乱。

【关键词】 氧化三甲胺; 脾虚高脂血症; 脂代谢; 香砂六君子汤; 大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 10-1261-10

Effect of TMAO on lipid metabolism in spleen-deficiency hyperlipemia rats and the therapeutic effect of Xiangsha Liujunzi Decoction

LENG Xue^{1*}, LI Yang²

(1. College of Integrative Chinese and Western Medicine, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China. 2. College of Laboratory Animal Medicine and Science, Liaoning

University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847)

Corresponding author: LENG Xue. E-mail: 290404025@qq.com

【基金项目】 国家自然科学基金 (82104552)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (82104552).

【作者简介】 冷雪 (1983—), 女, 高级实验师, 博士, 硕士研究生导师, 研究方向: 中西医结合基础。Email: 290404025@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of TMAO, a metabolite of intestinal flora, on hepatic lipid metabolism in rats with splenic deficiency and hyperlipidemia, and to further explore the possible mechanism of Xiangsha Liujunzi Decoction in the treatment of hepatic lipid metabolism disorder. **Methods** SD rats were divided a blank control group (C group), blank control + TMAO inhibitor DMB group (C + D group), spleen deficiency hyperlipidemia group (PG group), spleen deficiency hyperlipidemia + DMB group (PG + D group), and spleen deficiency hyperlipidemia + Xiangsha Liujunzi Decoction group (PG + XS group). Except C group and C + D group, the other groups were used to establish a spleen deficiency hyperlipidemia model (12 weeks of modeling) by combining excessive fatigue and a high fat diet. After model establishment, C + D group and PG + D group were administered 1%DMB in drinking water every day, and the PG + XS group was administered Xiangsha Liujunzi Decoction (11.34 g crude drug/kg) every day. The other groups were administered the same amount of normal saline. Blood lipid levels were measured by an automatic biochemical method after 4 weeks of intragastric administration. Morphological changes of the liver were observed by HE staining. Lipid deposition in the liver was observed by oil red O staining. Liver FFA, TG, and TC were measured by ELISA. Plasma TMAO content was measured by LC-MS. Relative mRNA expression levels of PERK, FOXO1, SREBP-2, ABCA1, and miR-33 in the liver were measured by qRT-PCR. SREBP-2 and ABCA1 contents in the liver were measured by Western Blot. **Results** Serum contents of TC, TG, and LDL-C in the PG group were significantly higher than those in the C group, and HDL-C was content was significantly lower than that in the C group. FFA, TG, and TC contents in liver tissue of PG rats were significantly increased compared with those the C group. Compared with the C group, lipid deposition in the liver was aggravated and vacuoles were increased significantly. There was no difference in the above indexes between group C + D group and C group. Compared with the PG group, PG + D group and PG + XS group had significantly reduced serum contents of TC, TG, and LDL-C, increased HDL-C content, reduced FFA, TG, and TC contents in liver tissue, alleviated lipid deposition in liver tissue, and reduced liver vacuoles. No significant difference was observed between PG + D group and PG + XS group. Compared with the C group, the plasma TMAO content of the PG group was significantly increased, mRNA expression PERK, FOXO1, and miR-33a in the liver was significantly increased, and liver SREBP-2 and ABCA1 mRNA and protein expression was significantly decreased. No difference in the above indexes was observed between C + D and C groups. Compared with the PG group, PG + D group and PG + XS group had significantly reduced plasma TMAO content, decreased mRNA expression of PERK, FOXO1, and miR-33a in the liver, and increased SREBP-2 and ABCA1 mRNA and protein expression in the liver. No significant difference was observed between PG + D group and PG + XS group. **Conclusions** TMAO may regulate the SREBP-2/miR-33a/ABCA1 signaling pathway through the PERK/FOXO1 axis to cause liver lipid metabolism disorder in rats, and Xiangsha Liujunzi Decoction may inhibit liver lipid metabolism disorder by reducing TMAO content.

【Keywords】 TMAO; spleen deficiency and hyperlipidemia; lipid metabolism; Xiangsha Liujunzi Decoction; rat
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

血脂代谢异常是动脉粥样硬化等心血管疾病发生的潜在独立因素之一,随着人们日常饮食变化,血脂异常的发生率呈现逐年升高的趋势^[1]。中医多认为血脂代谢异常与脾失健运膏脂转输障碍密切相关^[2],脾气失运,膏脂滞留体内,聚化痰浊,痰浊又加剧脾运失司,往复循环,致使膏脂内摄而难化。脾虚引起的血脂代谢异常通常引起肝脂质沉积现象^[3],可见脾、血脂代谢、肝脂代谢之间存在一定关联,研究脂代谢紊乱引起血脂代谢异常类疾病的作用机制具有重要意义。

氧化三甲胺(trimethylamine oxide,TMAO)^[4-5]为肠道菌群产生的代谢物。研究发现 TMAO 水平与血脂代谢存在明显相关性^[6],同时 TMAO 可以作为多种心血管疾病发生的潜在关键生物标志物^[7],关

键受体-蛋白激酶 R 样内质网激酶(protein kinase R-like ER kinase,PERK)为内质网跨膜蛋白,其可通过启动未折叠蛋白反应达到保护细胞损伤的作用^[8];叉头框蛋白 O1(forkhead box O1,FoxO1)是 FOX 家族 FOXO 亚科中成员之一^[9],控制介导代谢调节的下游基因转录^[10];FOXO1 可调控下游固醇调节元件结合蛋白-2(sterol-regulatory element-binding protein-2,SREBP-2)^[11],SREBP-2 进而可调控下游 miR-33a^[12],同时 miR-33a 参与下游三磷酸腺苷结合盒转运体 A(ATP-binding cassette transporter A1,ABCA1)的调控,进而 FOXO1 可通过 SREBP-2/miR-33a/ABCA1 信号轴影响肝脂代谢调控过程^[13];Chen 等^[14]发现 TMAO/PERK/FOXO1 信号轴可能与脂代谢调控密切相关,前期研究也发现

TMAO 与肝甘油三酯形成有一定的关联性^[15]。因此,通过预防和/或恢复 TMAO 水平可能是预防肝和血脂代谢异常发生发展的有效策略。健脾益气降浊之名方香砂六君子汤可干预脾虚高脂血症大鼠血脂代谢异常及肝代谢紊乱的作用^[16]。但是肠道菌群 TMAO 如何影响血脂及肝脂代谢异常及香砂六君子汤是否通过调控肠道菌群代谢物 TMAO 进行的干预机制还需要深层次探究。本研究以 TMAO 为主要切入点,探讨其通过 PERK/FOXO1 轴调控 SREBP-2/miR-33/ABCA1 信号通路影响肝脂代谢紊乱的作用机制,以及探讨香砂六君子汤对干预脂代谢异常的机制是否与 TMAO 有关,以为中医药防治血脂代谢异常类疾病提供一定的基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

50 只 7 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠,体重 180 ~ 220 g,购于辽宁长生生物技术股份有限公司【SCXK(辽)2020-0001】。辽宁中医药大学动物实验室【SYXK(辽)2019-0004】进行常规饲养(恒温 22 ~ 25℃,恒湿 40% ~ 60%,昼夜各半照明),饲料由小泰有泰(北京)生物科技有限公司提供。实验通过辽宁中医药大学实验动物伦理委员会审批(21000042022008)。

1.1.2 主要试剂与仪器

Anti-SREBP-2(Proteintech, 28212-1-AP), Anti-ABCA1(Abcam, ab66217), DMB(3,3-二甲基-1-丁醇,上海麦克林, D832026), 4%多聚甲醛、苏木素染液、油红 O 染液(上海碧云天 P0099、C0105S、C0158S),胆固醇试剂盒、甘油三酯试剂盒,(南京建成 20210806、20210809);大鼠游离脂肪酸(FFA)ELISA 试剂盒(上海源桔, YJ566656)。

全自动生化分析仪(日立, 7180 型, 日本)、多功能全波长酶标仪(SpectraMaxi3, MD, 美国);高性能组织脱水机(ASP 6025, Leica, 日本)、数字扫描显微成像系统(M8, Precipoint, 德国);实时荧光定量 PCR 仪(7500, ABI, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及实验干预

50 只大鼠适应 1 周后,随机分为 5 组,分别为:①空白对照组(C 组):普通饲料饲喂,正常饮水;

②空白对照 + DMB 组(C + D 组):普通饲料饲喂,饲养 12 周后饮水中加入 1% DMB(TMAO 抑制剂),饮用 4 周;③脾虚高脂血症组(PG 组):采用高脂饲料+脾虚复合造模方法^[17],造模 12 周;④脾虚高脂血症 + DMB 组(PG + DMB 组):采用高脂饲料 + 脾虚复合造模方法^[17],造模 12 周,之后给予 DMB(饮水中加入 1% DMB),4 周;⑤脾虚高脂血症 + 香砂六君子汤组(PG + XS 组):采用高脂饲料 + 脾虚复合造模方法^[17],造模 12 周,灌胃香砂六君子汤 4 周,据前期结果^[15]取最高剂量每天 11.34 g 生药/kg,为本实验给药剂量,每组 10 只。

1.2.2 取材

模型构建及给药干预完成后,腹主动脉采血,全血一部分静置 2 h 后离心 20 min(3000 r/min)取上清为血清备用,一部分全血用抗凝管采血(3000 r/min 离心 20 min)取上清血浆,肝组织分别分装固定于 4%多聚甲醛中及冻存在 -80℃ 冰箱中。

1.2.3 全自动生化仪检测大鼠血清血脂变化

应用全自动生物化学分析仪进行大鼠血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 含量的检测。

1.2.4 形态学染色法(HE 染色、油红 O 染色)观察肝变化

取固定好的组织进行石蜡切片,操作按照 HE 染色试剂盒进行,光学显微镜 10 × 40 倍镜下拍照;固定好的肝组织用 OCT 包埋上机进行冰冻切片(6 μm),根据油红 O 染色试剂盒进行操作,甘油明胶封片后,10 × 40 倍镜下拍照。

1.2.5 ELISA 法及酶标仪试剂盒法检测肝 TG、TC、FFA 含量

按照 ELISA 试剂盒和酶标仪试剂盒的操作要求,取离心后的肝组织上清液进行操作,之后绘制标准曲线并计算肝中 FFA、TG、TC 水平。

1.2.6 LC-MS 法检测血浆 TMAO 水平

将样本溶液、内标溶液、80%乙腈水溶液进行混合沉淀;再取 25 μL 空白血浆,作为空白基质样本,加入 25 μL 内标溶液和 50 μL 80%乙腈水溶液进行沉淀;将上述样本分别涡旋混匀后,4℃离心 30 min(3500 r/min),提取 50 μL 上清液操作上机。

1.2.7 qRT-PCR 法检测肝 PERK、FOXO1、SREBP-2、ABCA1、miR-33 mRNA 表达水平

RNA 后提取后反转录成 mRNA 之后进行扩增。内参为 GAPDH、U6, 2^{-ΔΔCt}法进行最后统计分析,引物序列(表 1)。

表 1 引物序列

Table 1 Primers sequence		
基因 Gene	上游引物(5'-3') Forward primer(5'-3')	下游引物(5'-3') Reverse primer(5'-3')
GAPDH	AGGTTGTCTCTGTGACTTCAA	CTGTTGCTGTAGCCATATTCATTG-3
PERK	TCCGATACGGCATTTGGCTT	CGTCTTCCACGGTCACCTTCG
FOXO1	CAGCCAGGCACCTCATAACA	TCAAGCGGTTTCATGGCAGAT
ABCA1	GCAGCGACCATGAAAGTGAC	GAGGCGGTTCATCAATCTCGT
SREBP-2	GGGACATCGACGAGATGCTA	CCAGGGAAGGAGCTACATAGT
U6	CTCGCTTCGGCAGCACA	AACGCTTCACGAATTTGCGT
miR-33a	ACACTCCAGCTGGGTGCAATGCAACTACA	TGGTGTCTGGAGTCG

1.2.8 Western Blot 检测肝 SREBP-2、ABCA1 蛋白含量

提取肝蛋白,蛋白定量(BCA 法)后依次进行上样、电泳、转膜、4℃ 过夜一抗孵育、TBST 洗涤、二抗 1 h、TBST 洗涤、曝光操作等步骤,最后应用 Image Studio 软件分析。

1.3 统计学分析

SPSS 19.0 统计结果数据,以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较应用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 血脂变化

与 C 组相比,PG 大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平

升高明显,HDL-C 水平降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),C + D 组无显著变化;与 PG 组相比,分别给予 TMAO 抑制剂 DMB 及灌胃香砂六君子汤后,PG + D 组和 PG + XS 组大鼠血清中的 TG、LDL-C 水平明显降低,HDL-C 水平升高 ($P < 0.01$),各组 TC 含量有降低趋势无显著性差异;与 PG + D 组相比,PG + XS 组除 LDL-C 含量减少程度较低 ($P < 0.01$),其余无变化(表 2)。

2.2 肝 HE 染色

HE 染色可见,C 组及 C + D 组肝细胞质地均匀,无脂质空泡出现;与 C 组相比,PG 组出现肝空泡现象;与 PG 组相比,PG + D 组及 PG + XS 组大鼠肝组织内细胞脂质空泡数量显著减少,细胞空隙有所恢复(图 1)。

表 2 各组大鼠血脂水平 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L, $n = 6$)

Table 2 Serum lipid levels of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, mmol/L, $n = 6$)				
分组 Groups	TC	TG	LDL-C	HDL-C
C 组 C group	1.62 ± 0.23	1.47 ± 0.14	0.34 ± 0.05	0.59 ± 0.07
C + D 组 C + D group	1.63 ± 0.35	1.35 ± 0.33	0.32 ± 0.06	0.54 ± 0.08
PG 组 PG group	2.00 ± 0.35 *	2.16 ± 0.17 **	0.51 ± 0.05 **	0.30 ± 0.05 **
PG + D 组 PG + D group	1.72 ± 0.28	0.58 ± 0.08 ##	0.35 ± 0.05 ##	0.45 ± 0.10 ##
PG + XS 组 PG + XS group	1.73 ± 0.30	0.67 ± 0.40 ##	0.44 ± 0.05 ##ΔΔ	0.52 ± 0.06 ##

注:与 C 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 PG 组相比, ## $P < 0.01$;与 PG + D 组相比, ΔΔ $P < 0.01$ 。(下表同)
Note. Compared with C group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Compared with PG group, ## $P < 0.01$. Compared with PG + D group, ΔΔ $P < 0.01$. (The same in the following tables)

2.3 肝脂质沉积情况

通过油红 O 染色进行观察发现 C 组、C + D 组大鼠肝无脂质沉积;与 C 组相比,PG 组大鼠肝红色油滴出现,具有明显的脂质沉积现象;与 PG 组相比,PG + D 组及 PG + XS 组大鼠肝内脂质沉积现象有一定程度的减弱(图 2)。

2.4 肝 FFA、TG、TC 含量

与 C 组相比,PG 组大鼠肝 FFA、TG、TC 水平升

高明显 ($P < 0.01$),C + D 组无显著性差异;与 PG 组相比,给予 TMAO 抑制剂 DMB、香砂六君子汤分别干预后,PG + D 组及 PG + XS 组大鼠 FFA、TG、TC 水平降低明显 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);与 PG + D 组相比,PG + XS 组无显著性差异(表 3)。

2.5 血浆 TMAO 含量及肝 PERK、FOXO1 mRNA 变化

如表 4 所示,与 C 组相比,PG 组大鼠血浆

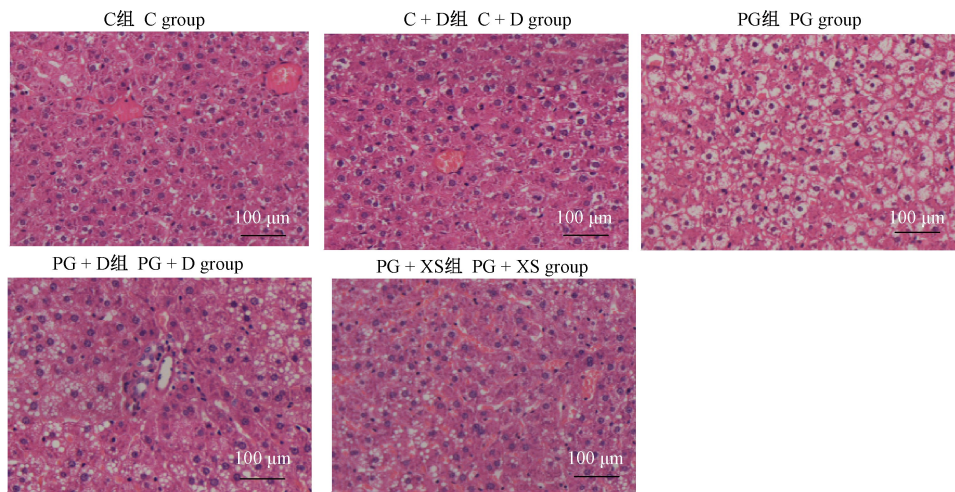


图 1 各组大鼠肝 HE 染色
Figure 1 HE staining of liver of rats in each group

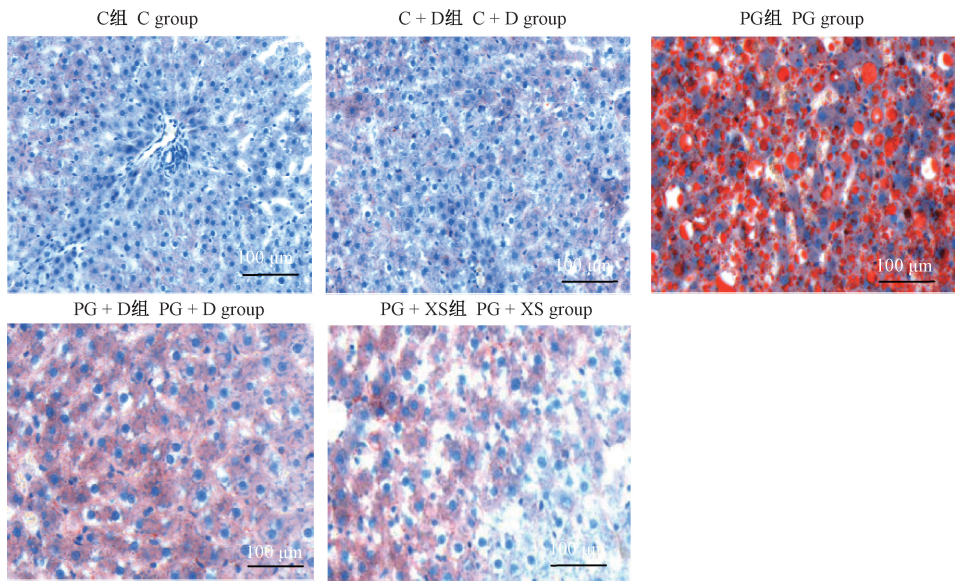


图 2 各组大鼠肝脂质沉积情况
Figure 2 Liver lipid deposition of rats in each group

表 3 各组大鼠肝 FFA、TG、TC 含量($\bar{x} \pm s, n = 5$)
Table 3 Liver FFA, TG and TC contents of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 5$)

分组 Groups	FFA($\mu\text{mol/L}$)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)
C 组 C group	1442. 11 $\pm$ 129. 64	1. 31 $\pm$ 0. 05	18. 23 $\pm$ 3. 12
C + D 组 C + D group	1466. 08 $\pm$ 80. 52	1. 41 $\pm$ 0. 16	15. 68 $\pm$ 1. 18
PG 组 PG group	1754. 82 $\pm$ 218. 48**	2. 90 $\pm$ 1. 18**	24. 80 $\pm$ 2. 87**
PG + D 组 PG + D group	1374. 35 $\pm$ 64. 19##	1. 73 $\pm$ 0. 17##	21. 48 $\pm$ 3. 25#
PG + XS 组 PG + XS group	1383. 73 $\pm$ 115. 19##	1. 62 $\pm$ 0. 22##	19. 61 $\pm$ 2. 27##

注:与 PG 组相比, * $P < 0.05$ 。(下表同)
Note. Compared with PG group, * $P < 0.05$. (The same in the following tables)

TMAO 水平、肝 PERK、FOXO1 mRNA 表达水平升高显著($P < 0.01$), C + D 组并无显著性差异;与 PG 组相比, PG + D 组和 PG + XS 组大鼠肝血浆 TMAO 水平、肝 PERK、FOXO1 mRNA 表达水平均降低明显($P < 0.01$);与 PG + D 组相比, PG + XS 组 PERK mRNA 表达降低明显($P < 0.01$)。

2.6 肝中 SREBP-2、miR-33a、ABCA1mRNA 变化

与 C 组相比, PG 组大鼠肝 SREBP-2、ABCA1 mRNA 表达降低($P < 0.01$), miR-33a mRNA 表达升高($P < 0.01$), C + D 对照组无显著性差异;与 PG 组比, PG + D 组大鼠肝 SREBP-2 mRNA 表达升高($P < 0.05$), miR-33a mRNA 表达降低($P < 0.01$), ABCA1 mRNA 表达也升高但是无显著性差异, PG + XS 组大鼠肝 SREBP-2、ABCA1 mRNA 表达升高($P < 0.01$), miR-33a mRNA 表达降低($P < 0.01$);与 PG + D 组比, PG + XS 组 SREBP-2、ABCA1 mRNA 表达进一步升高($P < 0.01$), miR-33a mRNA 表达有进一步降低趋势,但无显著性差异(表 5)。

2.7 肝 SREBP-2、ABCA1 蛋白表达变化

如表 6、图 3 所示,与 C 组相比, PG 组大鼠肝

SREBP-2、ABCA1 蛋白表达降低明显($P < 0.01$), C + D 对照组并无显著性差异;与 PG 组比, PG + D 组 SREBP-2、ABCA1 蛋白表达升高明显($P < 0.05$), PG + XS 组 SREBP-2、ABCA1 蛋白表达升高($P < 0.01$);与 PG + D 组比, PG + XS 组 SREBP-2、ABCA1 蛋白表达升高($P < 0.01$)。

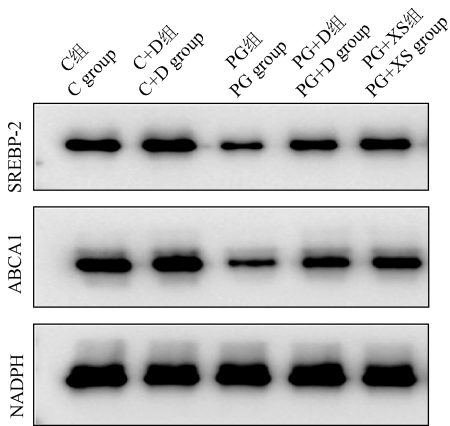


图3 大鼠肝 SREBP-2、ABCA1 蛋白表达变化

Figure 3 Relative contents of SREBP-2 and ABCA1 protein expression in liver of rats in each group

表4 各组大鼠血浆中 TMAO 及肝 PERK、FOXO1 mRNA 变化($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Plasma TMAO content and liver PERK and FOXO1 mRNA expression levels of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 3$)			
分组 Groups	TMAO(ng/L)	PERK	FOXO1
C 组 C group	344.86 ± 17.40	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.08
C + D 组 C + D group	328.38 ± 46.93	1.11 ± 0.16	1.06 ± 0.06
PG 组 PG group	721.52 ± 3.26**	9.11 ± 0.50**	2.22 ± 0.10**
PG + D 组 PG + D group	194.78 ± 10.54##	3.17 ± 0.06##	1.49 ± 0.18##
PG + XS 组 PG + XS group	193.86 ± 3.33##	1.54 ± 0.02##ΔΔ	1.37 ± 0.25##

表5 各组肝 SREBP-2、miR-33a、ABCA1 mRNA 的表达水平($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 mRNA expression levels of SREBP-2, miR-33a and ABCA1 in liver of each group($\bar{x} \pm s, n = 3$)			
分组 Groups	SREBP-2	miR-33a	ABCA1
C 组 C group	1.00 ± 0.02	1.08 ± 0.54	1.00 ± 0.07
C + D 组 C + D group	0.96 ± 0.07	1.11 ± 0.31	1.07 ± 0.11
PG 组 PG group	0.15 ± 0.02**	7.23 ± 0.41**	0.25 ± 0.02**
PG + D 组 PG + D group	0.21 ± 0.02#	2.70 ± 0.39##	0.26 ± 0.01
PG + XS 组 PG + XS group	0.38 ± 0.02##ΔΔ	2.51 ± 0.14##	0.53 ± 0.03##ΔΔ

表 6 各组大鼠肝 SREBP-2、ABCA1 蛋白表达相对含量($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 6 Relative contents of SREBP-2 and ABCA1 protein expression in liver of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 3$)

分组 Groups	SREBP-2	ABCA1
C 组 C group	1.17 ± 0.13	1.09 ± 0.16
C + D 组 C + D group	1.29 ± 0.04	1.16 ± 0.11
PG 组 PG group	0.74 ± 0.11 **	0.57 ± 0.01 **
PG + D 组 PG + D group	0.92 ± 0.01 #	0.84 ± 0.04 ##
PG + XS 组 PG + XS group	1.01 ± 0.21 ##	1.07 ± 0.07 ##Δ

注:与 PG + D 组相比, $^{\Delta}P < 0.05$ 。
Note. Compared with PG + D group, $^{\Delta}P < 0.05$.

3 讨论

脂代谢紊乱极易引起脂肪肝、动脉粥样硬化、高脂血症等疾病,也给患者带来了巨大的经济负担^[18],因此调控血脂代谢是迫切之需。《素问·经脉别论篇》说:“饮入于胃,游溢精气,上输于脾。脾气散精,上归于肺,通调水道,下输膀胱,水津四布……”,可见脾运化的重要性^[19]。“血脂”类似于中医的“膏脂”^[20],脾的运化功能也与血脂代谢、脂代谢等密切相关,“脾失运化,浊滞血脉”^[21-22]。《杂病源流犀烛·痰饮源流》云:“好食油面猪脂,以至脾气不利,壅滞为痰。”可见常油腻饮食,引起脾虚导致运化功能减弱,进一步引起痰浊内生,而大量的痰浊凝滞于肝脉,造成肝脂代谢紊乱。近期研究发现肠道菌群可产生代谢物 TMAO^[23-24]。目前研究显示 TMAO 与脂代谢紊乱引起 ASCVD 的发生发展具有一定相关性,其参与了动脉粥样硬化^[25]、冠心病^[26]、糖尿病^[27]等多种疾病的发生、发展及相关并发症的产生过程。汤景辉等^[28]发现植物乳杆菌 ZDY04 可减轻 TMAO 诱导的 ApoE^{-/-}小鼠体内的动脉粥样硬化,其机制可能是通过促进 RCT 过程;此外发现 TMAO 含量与斑块的形成有相关性,并能抑制胆固醇的逆向转运,进而导致脂代谢异常^[29];靳步等^[30]发现 TMAO 可通过影响微管蛋白聚合、T 小管重构等促进心力衰竭的发生。提示 TMAO 水平变化与 ASCVD 疾病的发展至关重要,TMAO 的调控是治疗 ASCVD 疾病的有效策略之一。香砂六君子汤出自《古今名医方论》,可对脾失健运引起的膏脂代谢异常起到一定的干预作用^[31-32]。课题组前期发现香砂六君子汤对肝脂代谢异常具有一定的

干预作用,具体机制还未明晰^[16]。

本实验造模方法遵循以往团队方法,在脾虚高脂血症模型基础上分别给予 TMAO 抑制剂(DMB)、香砂六君子汤进行干预,观察 TMAO 对脾失健运引起膏脂运输障碍引起的肝脂质沉积的影响及香砂六君子汤的干预机制研究。本次发现 PG 组大鼠血脂变化、形态学变化及血浆中 TMAO 变化与团队前期结果一致^[15],同时大鼠肝 TG、TC、FFA 水平明显增加;给予 DMB 对 TMAO 进行干预,发现 DMB 可以显著抑制 TMAO 的生成,此外 TMAO 被抑制后,可缓解血脂代谢水平,同时改善了肝脂代谢紊乱现象。研究发现给予香砂六君子汤可通过降低血浆 TMAO 含量,进而改善血脂代谢紊乱、肝脂代谢紊乱的现象,其效果类似于 TMAO 抑制剂 DMB。体外实验发现 TMAO 对内质网应激过程具有一定的干扰^[33];Saaoud 等^[34]同样发现抑制内质网(ER)应激介质 PERK (TMAO 受体),会抑制 TMAO 诱导的 HAECs 激活。叉头框(forkhead box FOX)家族参与代谢的关键蛋白转录因子^[35],研究显示 FOXO1 参与小鼠肝细胞脂质沉积的调节^[36],同时也是调控心脑血管疾病的关键作用靶点^[37],FOXO1 通路功能障碍易导致非酒精性脂肪肝、动脉粥样硬化等疾病^[9]。Chen 等^[14]发现 PERK 与 TMAO 结合,通过激活 PERK 分支,可进一步诱导转录因子 FOXO1,进而影响血脂异常类疾病的发生发展,提示 TMAO/PERK/FOXO1 信号轴可能与脂代谢调控密切相关。

本研究显示,PG 组大鼠血浆 TMAO 含量升高,通路轴上 PERK、FOXO1 mRNA 及蛋白表达明显增加,提示 TMAO 可以启动 PERK/FOXO1 轴参与 FOXO1 对下游脂代谢的调节;给予 DMB 后可以显著降低 TMAO 的含量从而抑制下游 PERK、FOXO1 的表达;同样给予香砂六君子汤后,可以通过抑制 TMAO 来抑制 TMAO/PERK/FOXO1 轴的表达。

FOXO1 可参与下游多种因子代谢调节,研究显示固醇调节元件结合蛋白-2(SREBP-2)可以在转录水平上被 FOXO1 调控^[11],SREBP-2 参与胆固醇代谢调控过程,通常特异性结合 LDLR、HMGCR 等基因^[38],研究显示电针可通过调控 SCAP/SREBP-2 通路干预高脂血症大鼠胆固醇代谢紊乱的现象^[39];此外小鼠巨噬细胞脂质蓄积也与 SREBP2 表达相关^[40];课题组前期发现脾虚高脂血症大鼠肝脂质沉积、血脂紊乱可能与 miR122a/SREBP-2 通路有关^[41]。miRNAs 是一类非编码 RNA,参与机体内多

种代谢调控过程^[42]。miR-33a 由 SREBP 基因内含子编码,参与肝脂代谢调控过程^[12]。研究发现 miR-33a 可与 SREBP-2 联合提高细胞内胆固醇水平,并加剧肝脂代谢紊乱^[42],可见 miR-33a 与 SREBPs 协同作用是促进肝脂质合成的关键步骤。三磷酸腺苷结合盒转运体 A (ABCA1) 参与 HDL 生成过程^[43],其可受到 miR-33 的调控,miR-33a 水平降低可增加 ABCA1 表达和细胞内胆固醇流出^[44];小鼠体内注射 miR-33 腺病毒抑制 ABCA1 表达,相反注射反义寡核苷酸 miR-33 腺病毒的小鼠体内 ABCA1 表达增高,可见 ABCA1 是 miR-33 真正的靶标基因^[45]。

SREBP-2/miR-33a/ABCA1 三个关键基因,形成调控脂代谢的代谢通路,这对肝脂质沉积的形成至关重要。本实验研究发现,在 PG 组大鼠肝中 SREBP-2、ABCA1 mRNA 及蛋白表达均不同程度降低,miR-33a mRNA 表达显著上升;给予 DMB 后可以进一步促进 SREBP-2、ABCA1 mRNA 及蛋白表达,抑制 miR-33a mRNA 表达,同样香砂六君子汤对 SREBP-2/miR-33a/ABCA1 轴的调控作用与 DMB 一致。可见 DMB 可以通过抑制 TMAO 的表达从而影响 TMAO/PERK/FOXO1 轴介导的下游 SREBP-2/miR-33a/ABCA1 通路从而抑制肝脂代谢紊乱导致的脂质沉积现象;香砂六君子汤也可通过抑制 TMAO 的表达起到影响 TMAO/PERK/FOXO1 轴介导的下游 SREBP-2/miR-33a/ABCA1 通路作用,进而干预脂代谢紊乱的作用,起到抑制大鼠肝脂沉积发生和发展。

综上所述,TMAO 可能通过参与调控 PERK/FOXO1 代谢轴,靶向下流的 SREBP-2/miR-33a/ABCA1 信号通路,影响 ABCA1 表达,进而引起肝脂沉积;香砂六君子汤可通过抑制 TMAO 的表达,调控 PERK/FOXO1 代谢轴,影响下游 SREBP-2/miR-33a/ABCA1 通路,进而改善肝脂代谢紊乱现象。但本研究也存在一定的局限性,香砂六君子汤是否通过干预肠道菌群来干预 TMAO 的作用机制达到调控脂代谢紊乱的作用,仍需深入研究。

参 考 文 献(References)

- [1] 柏帆,唐露霖,尚文斌. 高脂血症的中医分类治疗探讨[J]. 中医药学报, 2022, 50(2): 10-13.
- Bai F, Tang LL, Shang WB. Discussion on TCM classification and treatment of hyperlipemia [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2022, 50(2): 10-13.
- [2] 贾连群,杨关林,张哲,等. 从“脾主运化”理论探讨膏脂转

输与胆固醇逆向转运[J]. 中医杂志, 2013, 54(20): 1793-1795.

- Jia LQ, Yang GL, Zhang Z, et al. Discussion on the transfer of ointment and fat and the reverse transfer of cholesterol from the theory of “spleen governing transport and transformation” [J]. J Tradit Chin Med, 2013, 54(20): 1793-1795.
- [3] 李鑫,曹慧敏,宋因,等. 基于胆固醇逆向转运探讨脾虚对高脂血症的影响及时效关系[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(7): 55-59.
- Li X, Cao HM, Song N, et al. Effect of spleen deficiency on hyperlipidemia and its time-effect relationship based on reverse transport of cholesterol [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2020, 38(7): 55-59.
- [4] Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease [J]. Nature, 2011, 472(7341): 57-63.
- [5] Jonsson AL, Bäckhed F. Role of gut microbiota in atherosclerosis [J]. Nat Rev Cardiol, 2017, 14(2): 79-87.
- [6] Xiong X, Zhou J, Fu Q, et al. The associations between TMAO-related metabolites and blood lipids and the potential impact of rosuvastatin therapy [J]. Lipids Health Dis, 2022, 21(1): 60.
- [7] Konieczny R, Kuliczowski W. Trimethylamine N-oxide in cardiovascular disease [J]. Adv Clin Exp Med, 2022, 31(8): 913-925.
- [8] Minamino T, Komuro I, Kitakaze M. Endoplasmic reticulum stress as a therapeutic target in cardiovascular disease [J]. Circ Res, 2010, 107(9): 1071-1082.
- [9] Xing YQ, Li A, Yang Y, et al. The regulation of FOXO1 and its role in disease progression [J]. Life Sci, 2018, 193: 124-131.
- [10] Peng S, Li W, Hou N, et al. A review of FoxO1-regulated metabolic diseases and related drug discoveries [J]. Cells, 2020, 9(1): 184.
- [11] Guo Y, Zhao M, Bo T, et al. Blocking FSH inhibits hepatic cholesterol biosynthesis and reduces serum cholesterol [J]. Cell Res, 2019, 29(2): 151-166.
- [12] Rottiers V, Näär AM. microRNAs in metabolism and metabolic disorders [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(4): 239-250.
- [13] Babashamsi MM, Koukhaloo SZ, Halalkhor S, et al. ABCA1 and metabolic syndrome; a review of the ABCA1 role in HDL-VLDL production, insulin-glucose homeostasis, inflammation and obesity [J]. Diabetes Metab Syndr, 2019, 13(2): 1529-1534.
- [14] Chen S, Henderson A, Petriello MC, et al. Trimethylamine N-oxide binds and activates PERK to promote metabolic dysfunction [J]. Cell Metab, 2019, 30(6): 1141-1151.
- [15] 王杰,宋因,陈丝,等. 基于肠道菌群调控 TMAO/PERK/FOXO1 途径探讨香砂六君子汤对脾虚高脂血症大鼠肝脏甘油三酯合成的影响及机制[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(2): 286-291.
- Wang J, Song N, Chen S, et al. Based on the regulation of TMAO/PERK/FOXO1 by intestinal flora, this paper discusses the effect and mechanism of Xiangsha Liujunzi Decoction on the synthesis of liver triglyceride in rats with spleen deficiency and

- hyperlipidemia [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2022, 33 (2): 286–291.
- [16] 冷雪, 曹媛, 王莹, 等. 香砂六君子汤通过调控 miR-182/FOXO1 对脾虚高脂血症大鼠肝脏脂质沉积的影响及可能的机制 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(7): 2677–2683.
- Leng X, Cao Y, Wang Y, et al. Effect of Xiangsha Liujunzi Decoction on liver lipid deposition in rats with spleen deficiency and hyperlipidemia by regulating miR-182/FOXO1 and its possible mechanism [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2022, 24(7): 2677–2683.
- [17] 陈丝, 宋囡, 崔馨月, 等. 香砂六君子汤对脾虚高脂血症模型大鼠胆固醇逆向转运的影响 [J]. 中医杂志, 2019, 60 (17): 1493–1498.
- Chen S, Song N, Cui XY, et al. Effect of Xiangsha Liujunzi Decoction on reverse cholesterol transport of spleen deficiency and hyperlipidemia model rats [J]. J Tradit Chin Med, 2019, 60 (17): 1493–1498.
- [18] 王增武, 刘静, 李建军, 等. 中国血脂管理指南(2023 年) [J]. 中国循环杂志, 2023, 38(3): 237–271.
- Wang ZW, Liu J, Li JJ, et al. Chinese guidelines for lipid management(2023) [J]. Chin Circ J, 2023, 38(3): 237–271.
- [19] 周佳, 陈娇, 韦双双. 从脾论治高脂血症 [J]. 长春中医药大学学报, 2016, 32(2): 309–312.
- Zhou J, Chen J, Wei SS. Traditional Chinese medicine based on spleen for treating hyperlipidemia [J]. J Changchun Univ Chin Med, 2016, 32(2): 309–312.
- [20] 王洋, 刘悦, 孔德昭, 等. 基于“脾气散精”理论探讨健脾祛痰法对膏脂转运障碍的调节机制 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(6): 111–114.
- Wang Y, Liu Y, Kong DZ, et al. Based on the theory of “Spleen Qi Distribute Essence” to explore the regulating mechanism of “Jian Pi Qu Tan” method on the grease transport disorder [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2021, 23(6): 111–114.
- [21] 李维娜, 冯玲. 高脂血症从脾论治探幽 [J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(4): 577–580.
- Li WN, Feng L. Discussion of the treatment of hyperlipidemia on the basis of spleen theory [J]. World J Integr Tradit West Med, 2017, 12(4): 577–580.
- [22] 张蕾, 张琪, 游云, 等. 基于代谢组学技术探讨高脂血症及动脉粥样硬化痰瘀证候的演变规律 [J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(7): 823–833.
- Zhang L, Zhang Q, You Y, et al. Investigation of evolution rules of phlegm and blood stasis syndrome in hyperlipidemia and atherosclerosis by NMR-based metabolic profiling and metabonomic approaches [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2015, 35(7): 823–833.
- [23] Zeisel SH, Warrier M. Trimethylamine N-oxide, the microbiome, and heart and kidney disease [J]. Annu Rev Nutr, 2017, 37: 157–181.
- [24] Koeth RA, Levison BS, Culley MK, et al. γ -Butyrobetaine is a proatherogenic intermediate in gut microbial metabolism of L-carnitine to TMAO [J]. Cell Metab, 2014, 20(5): 799–812.
- [25] 李铁男, 裴汉军. 氧化三甲胺促进动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 心血管病学进展, 2022, 43(6): 542–546.
- Li YN, Pei HJ. Trimethylamine N-oxide promoting atherosclerosis [J]. Adv Cardiovasc Dis, 2022, 43(6): 542–546.
- [26] 韩嘉明, 高中山, 段豪亮, 等. 氧化三甲胺在冠心病中的研究进展 [J]. 中国心血管病研究, 2022, 20(7): 643–649.
- Han JM, Gao ZS, Duan HL, et al. Research progress of TMAO in coronary heart disease [J]. Chin J Cardiovasc Res, 2022, 20 (7): 643–649.
- [27] Zhuang R, Ge X, Han L, et al. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine N-oxide and the risk of diabetes; a systematic review and dose-response meta-analysis [J]. Obes Rev, 2019, 20(6): 883–894.
- [28] 汤景辉, 秦嫚嫚, 唐乐, 等. 植物乳杆菌 ZDY04 促进胆固醇逆向转运减轻 TMAO 诱导的 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化 [J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(3): 249–256.
- Tang JH, Qin MM, Tang L, et al. *Lactobacillus plantarum* ZDY04 reduces trimethylamine N-oxide-induced atherosclerosis by promoting reverse cholesterol transport in ApoE^{-/-} mice [J]. Chin J Microecol, 2022, 34(3): 249–256.
- [29] Senthong V, Wang Z, Li XS, et al. Intestinal microbiota-generated metabolite trimethylamine-N-oxide and 5-year mortality risk in stable coronary artery disease; the contributory role of intestinal microbiota in a COURAGE-like patient cohort [J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(6): e002816.
- [30] 靳步, 纪方方, 左安俊, 等. 氧化三甲胺通过促进成年小鼠心肌细胞 T 小管重构加重心力衰竭 [J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(6): 1034–1041.
- Jin B, Ji FF, Zuo AJ, et al. TMAO aggravates heart failure by promoting T-tubule remodeling in adult mouse cardiomyocytes [J]. Chin J Pathophysiol, 2020, 36(6): 1034–1041.
- [31] 吕美君, 贾连群, 王志丹, 等. 香砂六君子汤的文献分析研究 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(7): 1620–1623.
- Lyu MJ, Jia LQ, Wang ZD, et al. Philological study and analysis of Xiangsha Liujunzi Decoction [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2016, 34(7): 1620–1623.
- [32] 奚锦要, 朱永钦, 朱永革, 等. 香砂六君子汤联合针刺疗法治疗功能性消化不良临床疗效观察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(20): 157–162.
- Xi JY, Zhu YQ, Zhu YP, et al. Clinical efficacy of Xiangsha Liujunzi Tang combined with acupuncture therapy in treatment of syndrome of deficiency of spleen qi and stomach qi of functional dyspepsia [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2017, 23 (20): 157–162.
- [33] 温仁辉, 柯世业, 石光耀, 等. 内质网应激在氧化三甲胺促人脐静脉内皮细胞氧化应激中的作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(2): 193–199.
- Wen RH, Ke SY, Shi GY, et al. Role of endoplasmic reticulum stress in trimethylamine N-oxide-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells [J]. Chin J Pathophysiol, 2020, 36(2): 193–199.

- [34] Saaoud F, Liu L, Xu K, et al. Aorta- and liver-generated TMAO enhances trained immunity for increased inflammation via ER stress/mitochondrial ROS/glycolysis pathways [J]. JCI Insight, 2023, 8(1): e158183.
- [35] 李晞璠, 陈吉. 叉头框 (FOX) 基因家族的概述及进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(52): 72-73.
Li XF, Chen J. Overview and progress of FOX gene family [J]. World Latest Med Inf, 2017, 17(52): 72-73.
- [36] Liu YZ, Peng W, Chen JK, et al. FoxO1 is a critical regulator of hepatocyte lipid deposition in chronic stress mice [J]. Peer J, 2019, 7: e7668.
- [37] Menghini R, Casagrande V, Iuliani G, et al. Metabolic aspects of cardiovascular diseases: is FoxO1 a player or a target? [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2020, 118: 105659.
- [38] 李玉杰. 1 CRTC2 通过 FoxO1/SREBP-2/HMGCR 调节肝脏胆固醇合成的研究 2 TSH 通过上调肝脏中 CRTC2 的表达促进肝脏糖异生的研究 [D]. 济南: 山东大学; 2017.
Li YJ. 1 study on CRTC2 regulating the synthesis of hepatic cholesterol through FoxO1/SREBP-2/HMGCR 2 study on TSH promoting hepatic gluconeogenesis by up-regulating the expression of CRT C2 in liver [D]. Jinan: Shandong University; 2017.
- [39] 武欢, 张照庆, 陈丽, 等. 基于 SCAP/SREBP-2 通路探讨电针对高脂血症大鼠胆固醇代谢的影响 [J]. 针刺研究, 2023, 48(4): 325-330, 338.
Wu H, Zhang ZQ, Chen L, et al. Electroacupuncture mitigates hyperlipidemia via improving cholesterol metabolism mediated by SCAP/SREBP-2 signaling in liver tissue in rats [J]. Acupunct Res, 2023, 48(4): 325-330, 338.
- [40] 蒋思怿, 张瑞, 李晓歌, 等. PLIN2 通过调控 SREBP2 促进 RAW_{264.7} 巨噬细胞脂质蓄积 [J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(1): 1-9.
- [41] Jiang SP, Zhang R, Li XG, et al. PLIN₂ promotes lipid accumulation in RAW_{264.7} macrophages by regulating SREBP2 [J]. Chin J Pathophysiol, 2021, 37(1): 1-9.
- [42] 宋囡, 贾连群, 杨关林, 等. 脾虚高脂血症大鼠肝脏 miRNA-122a 的表达及其与 SREBP-2 通路调控的关系 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(3): 975-979.
Song N, Jia LQ, Yang GL, et al. Expression of mi RNA-122a in liver of hyperlipidemia rats with syndrome of spleen deficiency and its regulation correlated with SREBP-2 signaling pathway [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2016, 31(3): 975-979.
- [43] 魏鸿瞻, 钟连超, 高炳宏. microRNAs 通过调节肝脏糖脂代谢调控肝脏胰岛素抵抗 [J]. 中国细胞生物学报, 2020, 42(6): 1063-1070.
Wei HZ, Zhong LC, Gao BH. MicroRNAs regulate hepatic insulin resistance by regulating hepatic glycolipid metabolism [J]. Chin J Cell Biol, 2020, 42(6): 1063-1070.
- [44] Gerin I, Clerbaux LA, Haumont O, et al. Expression of miR-33 from an SREBP2 intron inhibits cholesterol export and fatty acid oxidation [J]. J Biol Chem, 2010, 285(44): 33652-33661.
- [45] Zhao GJ, Mo ZC, Tang SL, et al. *Chlamydia pneumoniae* negatively regulates ABCA1 expression via TLR2-Nuclear factor-kappa B and miR-33 pathways in THP-1 macrophage-derived foam cells [J]. Atherosclerosis, 2014, 235(2): 519-525.
- [46] 张海滨, 朱磊. miRNA-33 对脂代谢的调节 [J]. 体育世界, 2018, 7: 189-190.
Zhang HB, Zhu L. Regulation of miRNA-33 on lipid metabolism [J]. Sports World, 2018, 7: 189-190.

[收稿日期] 2023-07-13