

芦丁通过调控 TG 代谢途径抑制肝细胞脂肪变性的作用机制研究^{*}

潘 然, 丁 滨, 胡林峰, 张福利, 丁 蕾, 方 波, 谢璐帆, 窦晓兵[△]

(浙江中医药大学生命科学院, 浙江 杭州 310053)

摘要: 目的 通过体外建立油酸(Oleic acid, OA)诱导的脂肪变性肝细胞 HepG2 模型探索芦丁预防脂肪聚积的分子机制。方法 利用乳酸脱氢酶(LDH)释放评价芦丁对 HepG2 细胞毒性的影响;用 0.5 mmol/L OA 诱导人肝细胞株 HepG2 建立体外脂肪聚积细胞模型,并通过油红 O 染色观察和甘油三酯(TG)含量判定细胞模型是否建立成功;分别采用实时荧光定量 PCR 技术及 Western Blot 技术在转录水平及翻译水平检测相关蛋白的表达差异。结果 芦丁和油酸不会导致 HepG2 细胞中 LDH 激增,但油酸会造成细胞内 TG 聚积。而芦丁能有效抑制 OA 诱导的 HepG2 细胞中 TG 的聚积,以及二脂酰甘油酰基转移酶(Diacylglycerol acyltransferase, DGAT)的转录($P < 0.05$),同时激活过氧化物酶体增殖物激活受体 α (Peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR- α)的转录($P < 0.05$)及翻译(且与芦丁浓度计量相关),进而促进其靶基因肉毒碱棕榈酰转移酶(Carnitine palmitoyltransferase, CPT)的转录。结论 芦丁能够激活脂肪变性肝细胞 HepG2 中 PPAR- α 的转录和翻译,进而促进其靶基因 CPT 的转录,加剧了脂肪酸的降解代谢,与此同时对 DGAT 转录的抑制阻止了 TG 的合成。该结果进一步阐明了芦丁防治非酒精性脂肪性肝病的作用机制,为芦丁的临床使用提供了理论依据和实验基础。

关键词: 油酸; 肝细胞; 芦丁; 二脂酰甘油酰基转移酶; 肉毒碱棕榈酰转移酶

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2015)05-0001-06

非酒精性脂肪性肝病(Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是多病因引起的以肝细胞内脂质蓄积及肝细胞脂肪变性为特征的临床病理综合征,包括单纯性非酒精性脂肪肝(Nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎(Nonalcoholic steatohepatitis, NASH),进一步可发展为肝纤维化,甚至肝癌。肝脏能利用甘油、糖、脂肪酸和甘油一酯为原料,经过磷脂酸途径和甘油一酯途径合成甘油三酯(Triacylglycerol, TG);同时 TG 也能在一系列脂肪酶的作用下,分解生成甘油和脂肪酸,并释放入血供其它组织利用^[1]。已知与 TG 代谢相关的蛋白中二脂酰甘油酰基转移酶(DGAT)和肉毒碱棕榈酰转移酶(CPT)分别是甘油三酯合成代谢、脂肪酸合成及分解代谢途径中的限速酶。以上 3 个蛋白的异常表达,直接导致肝脏细胞 TG 聚积,促进 NAFLD 的发生和发展。而过氧化物酶体增殖剂激活

受体 α (Peroxisome proliferators activated receptor α , PPAR- α)是调控基因表达的核内受体转录因子超家族成员之一,具有调控脂肪酸氧化等多种生物学效应。因此,本研究以芦丁对 3 个限速酶转录的调控及 PPAR- α 调控因子表达的影响,探索芦丁预防肝细胞中油酸诱导的 TG 聚积的分子机制。

芦丁属黄酮类化合物,又称芸香苷、维生素 P、紫瓣皮苷,存在于芸香叶、荞麦花等多种植物中,具有抗炎、抗病毒作用,对脂肪浸润的肝脏有祛脂作用,临床上多用于治疗脑溢血、高血压、视网膜出血、紫癜和急性出血性肾炎^[2-4]。在非酒精性脂肪性肝病的中药单药研究中发现,以芦丁为主要成分之一的黄酮类化合物有着突出的临床表现^[5],具有降血糖、降血脂、保肝等作用^[6-7]。已有动物实验研究表明,芦丁能通过降低甘油三酯,改善微循环,疏通肝内血液瘀滞以及抗氧化作用,调节机体脂代谢^[8-10]进

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金(81473393, 81241145);浙江省自然科学基金(LY12C07002)

收稿日期: 2015-08-05

作者简介: 潘然(1990-),女,浙江杭州人,在读硕士研究生,主要从事天然药物防治代谢性疾病的研究。

[△]通信作者: 窦晓兵, E-mail: xbdou77@163.com

而达到防治 NAFLD 的目的。但是芦丁治疗 NAFLD 的分子机制尚不清楚,因此用现代生物技术进一步揭示芦丁治疗 NAFLD 的作用机制及靶点,对于拓展芦丁应用的领域,探索有效预防 NAFLD 的新思路具有积极科学意义。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

人肝细胞株 HepG2 购自中科院上海细胞库。

1.1.2 试剂

实验用 PPAR- α 抗体购自 BOSTER(H1712), β -Actin 抗体购自 Santa(B1914)。LDH 检测试剂盒(317674)、BioEasy Master Mix (SYBR Green)(BSB25L1)均购自 Thermo。BCA 试剂盒购自北京鼎国生物(BCA-01),Trizol 购自 Invitrogen(103205)。芦丁购自上海瑞永生物科技(RW95247Q301,纯度 $\geq 95\%$),配成 10mmol/L 原液待用。引物由上海生工合成,其他化学试剂购自 Sigma-Aldrich 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及模型建立

人肝细胞株 HepG2 用含 10%胎牛血清、青霉素 100U/mL、链霉素 100 μ g/mL 的 DMEM 培养液培养, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 条件下培养。当培养瓶中的细胞长成 80%时即可进行传代培养^[1]。

制备单细胞悬液, 细胞按 2×10^5 个/mL 密度接种于 24 孔培养板内, 每孔 1mL, 将 HepG2 细胞分成 4 组: ①空白对照组(UT): 不作任何药物处理; ②芦丁组(Rutin): 仅用芦丁处理; ③OA 组(OA): 仅用 OA 处理; ④芦丁+OA 组(Rutin+OA): 芦丁预处理后加入 OA 处理。以上 4 组每组设 3 个重复组, 芦丁预处理 2h 后向③、④组加入 0.5mmol/L OA 培养箱中培养过夜。

1.2.2 HepG2 细胞油红 O 染色

PBS 清洗 2 遍, 4%多聚甲醛 500 μ L/孔固定 30min; 稀释油红储存液: 油红: 去离子水=3: 2, 滤纸过滤后室温放置 10min; 用过滤后的油红 O 染液 500 μ L/孔染色 10min; 用 60%异丙醇漂洗脱色, 除去多余的染料; 40 倍光学显微镜观察、拍照。

1.2.3 HepG2 细胞内 TG 含量测定

向油红 O 染色后的培养板内加入 4% NP40 覆盖底面, 待颜色稳定后吸取 200 μ L 上清用于测定吸光度。

1.2.4 LDH 测定

根据 LDH 检测试剂盒说明测定细胞培养液中 LDH 活性, 分析各组间的细胞毒性作用。

1.2.5 实时荧光定量 PCR

根据 Trizol 试剂盒一步法提取细胞和组织总 RNA, 完成逆转录和实时荧光定量 PCR。所用引物如表 1 所示(β -actin 为内参对照)。

表 1 引物序列

Name	Sequences
PPAR- α	Sense: 5'-CCCTGTCTGCTCTGTGGACT-3'
	Anti-sense: 5'-CCGAGCTCCAAGCTACTCTT-3'
CPT1a	Sense: 5'-TCCAGTTGGCTTATCGTGGTG-3'
	Anti-sense: 5'-CTAACGAGGGGTCGATCTTGG-3'
CPT2	Sense: 5'-ACCTGGTCAATGCGTATCCC-3'
	Anti-sense: 5'-ACTGCCGAGTCCACTTTCCT-3'
DGAT1	Sense: 5'-TCGCCTGCAGGATTCTTTAT-3'
	Anti-sense: 5'-GCATCACCACACACCAGTTC-3'
DGAT2	Sense: 5'-AGTGGCAATGCTATCATCATCGT-3'
	Anti-sense: 5'-TCTTCTGGACCCATCGGCCCCAGGA-3'
β -actin	Sense: 5'-CACGATGGAGGGGCCGACTCATC-3'
	Anti-sense: 5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT-3'

1.2.6 Western Blot

用裂解法提取总蛋白, 用 BCA 试剂盒测定浓度。将各组调整至相同蛋白浓度后, 取 20 μ g 样本经 SDS-PAGE 电泳、转移电泳、抗体免疫(一抗分别为抗 PPAR- α 蛋白、抗 β -actin 蛋白)、ECL 显影、曝光等步骤检测蛋白表达情况(β -actin 做内参对照)。

1.3 统计学处理

利用 SPSS17.0 统计软件, 数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间均数比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 芦丁抑制 OA 诱导的 HepG2 细胞内 TG 的积聚

用 20 μ mol/L 芦丁预处理 HepG2 细胞 2h, 再加入 0.5mmol/L OA 孵育过夜, LDH 结果显示, OA 组、Rutin 组、Rutin+OA 组这 3 个处理组细胞活性与 UT 组相比无明显差异($P > 0.05$), 见图 1。OA 组细胞内 TG 含量是 UT 组的 1.63 倍($P < 0.05$), 而与 OA 组相比, Rutin+OA 组 TG 含量显著降低, 见图 2。该试验结果与油红 O 染色观察到的现象相符: OA 作用 16 h 后, 各组细胞边缘清晰, 油红 O 染色后镜下观察

空白对照组和芦丁组细胞内几乎无红色脂滴; UT 和 Rutin 组细胞内几乎无红色脂滴; 而 OA 组和 Rutin+OA 组细胞内红色脂滴明显增加, 分布在靠近细胞膜的区域, 呈现密集小滴状; 但与 OA 模型组相比, Rutin+OA 组脂滴量则相对较少, 见图 3。

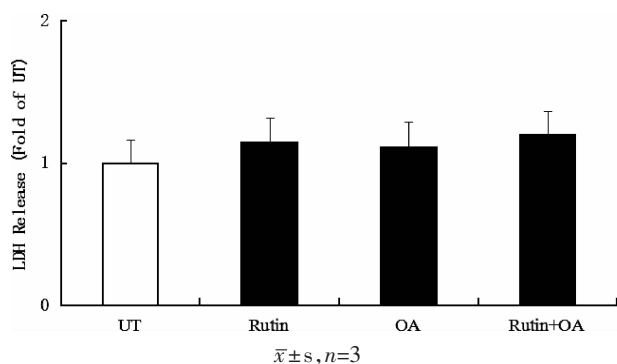


图 1 对比分析芦丁对脂肪变性 HepG2 细胞毒性的影响

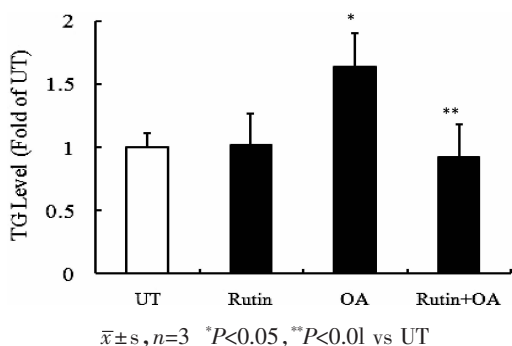
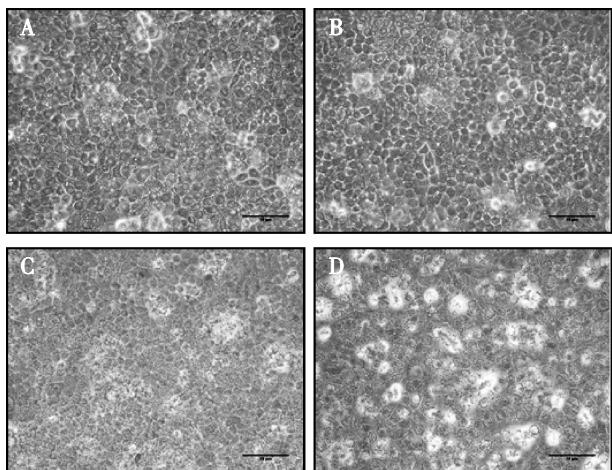


图 2 对比分析芦丁对脂肪变性 HepG2 细胞中 TG 含量的影响

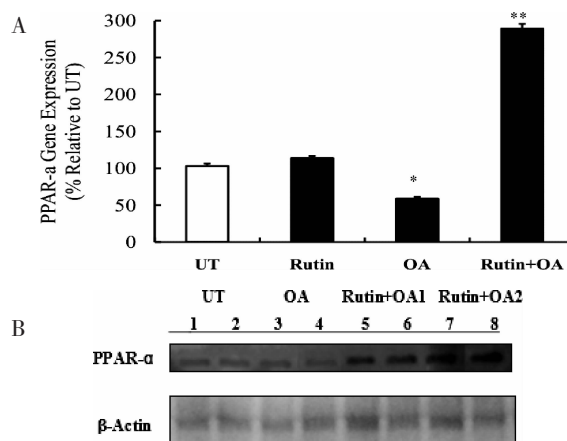


(A) UT. (B) 20 μmol/L Rutin. (C) 0.5 mmol/L OA. (D) 20 μmol/L Rutin, 0.5 mmol/L OA. OA group. (C) was significantly stained by oil red O staining, but relieved in Rutin+OA group (D).

图 3 光学显微镜下 (200×) 观察各实验组脂肪变性 HepG2 细胞 TG 含量的影响

2.2 芦丁对 PPAR-α 转录及翻译的影响

首先利用 Real-time PCR 方法对比研究 PPAR-α 在不同研究组中转录水平的差异。结果显示, 如图 4A, 与 UT 组比较, OA 组细胞内 PPAR-α mRNA 表达量为 62.4%, 呈显著降低 ($P<0.05$), 而 Rutin+OA 组中 PPAR-α 的 mRNA 表达量为 284%, 呈明显增加 ($P<0.05$)。为了进一步探究芦丁对 PPAR-α 蛋白表达水平的影响, 利用两种不同浓度处理细胞, Western blotting 结果如图 4B, 与 UT 组相比, OA 组中 PPAR-α 蛋白表达变化不明显, 而在两个不同 Rutin+OA 组中, 该蛋白的表达增加, 且与芦丁浓度正相关。



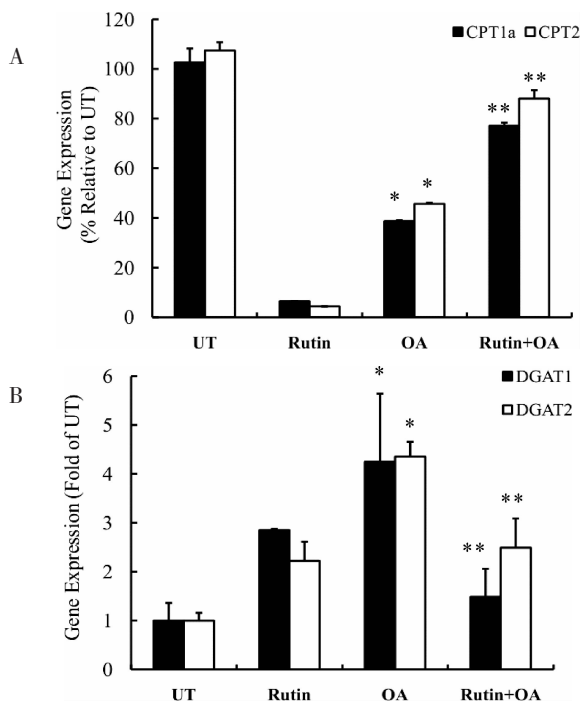
A: PPAR-α gene expression in HepG2. B: PPAR-α protein in HepG2. $\bar{x} \pm s, n=3$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs UT.

图 4 芦丁对脂肪变性 HepG2 细胞中 PPAR-α 在转录水平和翻译水平上的调控

2.3 芦丁对各组细胞中 CPT 和 DGAT 基因转录的影响

CPT 是脂肪酸 β 氧化途径中的限速酶, 我们首先对各试验组中该酶的 mRNA 表达情况对比分析, 结果如图 5A 所示, 与 UT 组相比, OA 组中 CPT 的两个亚型 (CPT1a 和 CPT2) mRNA 表达量显著降低 ($P<0.05$); 而 Rutin+OA 组中两个亚型的 mRNA 表达量显著高于 OA 组 ($P<0.05$)。

芦丁对预防 TG 聚积的影响, 即可能是促进 TG 的分解也可能是抑制 TG 的合成 (与 DGAT 相关)。Real-time PCR 结果显示, OA 组中 DGAT1 和 DGAT2 的 mRNA 相对表达量分别是 UT 组的 3.75 倍和 3.94 倍 ($P<0.05$)。而 Rutin+OA 组中 DGAT 两个亚型的 mRNA 表达量虽未恢复到正常水平但与 OA 组相比已显著降低, 见图 5B。



A: PPAR- α target gene expression; CPT-1/2 gene expression in HepG2. B: DGAT gene expression in HepG2. $\bar{x} \pm s$, $n=3$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs UT.

图5 芦丁对脂肪变性 HepG2 细胞中 CPT 及 DGAT 在转录水平的调控

3 讨论

随着生活水平的日益提高, NAFLD 患病率不断升高, 并呈低龄化发病趋势, 在发达国家, NAFLD 已成为慢性肝病及血清氨基酸转移酶升高的首要原因, 在我国仅次于病毒性肝炎^[12]。NAFLD 已成为全球备受关注的一大公共卫生问题, 严重威胁着人类的生命健康。NAFLD 发病机制复杂, 目前公认的是 Day 的“二次打击学说”^[13], 其中“二次打击”以脂质过氧化、内质网应激和线粒体功能损伤为主。已有多篇文献报道, PPAR- α 的表达量与 NAFLD 存在一定的关联^[14-17]: 肝脏脂肪酸水平的增高激活 PPAR- α 后, 诱导脂肪酸氧化的基因转录, 增加对脂肪酸氧化的能力, 进而降低脂质在肝脏的沉积, 在调节细胞脂肪酸代谢的各个环节中占有重要地位^[18-21]。Ying Cai 等人^[22]的研究发现, 芦丁能够显著减少 db/db 小鼠肝细胞内脂滴的积聚, 降低 TG 的含量, 同时小鼠的肌肉组织检测到高浓度的 PPAR 族蛋白。Cheng-Hsun W^[23]等人报道, 芦丁能够通过减少脂质积累和氧化应激反

应来降低 HepG2 细胞内 TG 的积累。本研究也在细胞水平证明了这一结果, 并且还进一步发现芦丁能够促进 PPAR- α 在转录和翻译水平上的表达, 提示其可能通过 PPAR- α 来调控细胞内脂肪酸代谢, 进而降低 TG 在肝细胞内的积聚。CPT 是线粒体内脂肪酸 β -氧化反应的限速酶, 分 CPT1 和 CPT2 两类。CPT1 位于线粒体内膜外侧, 催化长链脂肪酸从酰基辅酶 A 转移到肉毒碱上进而从胞浆进入线粒体内部, 并且进一步在位于线粒体内膜上的 CPT2 催化下进行 β 氧化^[24-27]。我们推测芦丁通过 PPAR- α 激活 CPT 的转录。为证实我们的推测, 我们检测了芦丁对细胞内 CPT 转录的影响。发现仅用芦丁处理反而会抑制 CPT 的转录, 且其抑制效率较 OA 更强。但同时加入芦丁和 OA 处理的细胞中 CPT 的转录又得以恢复。体现出中医中以毒攻毒, 否极泰来的用药理念。然而与我们的预测不同, 芦丁仅仅通过 PPAR- α 恢复了原有受抑制的 CPT 的转录。

除了降解途径, 影响肝脏内 TG 含量的另一个因素是脂肪酸以及 TG 的合成。DGAT 是 TG 合成的限速酶, 分 DGAT1 和 DGAT2 两种亚型, 能催化二酰甘油和脂肪酸酰基生成三酰甘油的反应, 在 TG 合成中起到了至关重要的作用。该酶在细胞中的浓度与脂肪代谢、脂类在脂肪中的沉积、血浆中 TG 的浓度有很大关系。Kong L^[28]、Charles A^[29]等实验证明 DGAT 在肝脏中的过表达能使细胞溶质中积累脂质, 并利用内源性的单不饱和脂肪酸合成 TG^[30-31]。在我们的研究中检测了各试验组细胞中 DGAT 的 mRNA 表达量, 发现芦丁能够显著抑制油酸诱导的细胞内 DGAT1 和 DGAT2 的基因转录, 从而抑制了 OA 诱导的 TG 的合成。

综上所述, 芦丁能够降低脂肪变性 HepG2 细胞 TG 含量, 在转录和翻译水平上增加细胞内 PPAR- α 的表达。并且能够激活脂肪酸代谢途径中 CPT 的表达, 同时抑制 TG 合成过程途径中 DGAT 的表达。我们推测芦丁是通过增加细胞内 PPAR- α 的表达, 恢复脂肪变性肝细胞中脂肪酸的正常氧化代谢、抑制脂肪酸的合成, 进而减缓 OA 诱导的肝细胞中 TG 的积累。同时芦丁通过抑制 DGAT 的转录, 减缓了脂肪变性感细胞中 TG 过量的合成。可见, 芦丁对脂

肪变性肝细胞脂质代谢的影响并不是单一的,可能涉及多种方式多条通路,具体机制还有待在后续的研究中阐明。

参考文献:

- [1] Lettieri Barbato D, Aquilano K, Baldelli S, et al. Proline oxidase-adipose triglyceride lipase pathway restrains adipose cell death and tissue inflammation [J]. *Cell Death Differ.* 2014, 21(1):113-123.
- [2] 韩淑英, 张宝忠, 朱丽莎, 等. 荞麦花总黄酮对实验性大鼠 II 型糖尿病高脂血症的防治作用 [J]. *中国药理学通报*, 2003, 19(4):477-478.
- [3] Niture NT, Ansari AA, Naik SR. . Anti-hyperglycemic activity of Rutin in streptozotocin-induced diabetic rats: An effect mediated through cytokines, antioxidants and lipid biomarkers [J]. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2014, 52(7):720-727.
- [4] Lettieri Barbato D, Aquilano K, Baldelli S, et al. Proline oxidase-adipose triglyceride lipase pathway restrains adipose cell death and tissue inflammation [J]. *Cell Death Differ.* 2014, 21(1):113-123.
- [5] 朱丹, 吕文良, 陈兰羽. 非酒精性脂肪性肝病的中药单药研究[J]. *中华中医药学刊*, 2014, 32(4):783-785.
- [6] Gao M, Ma Y, Liu D. Rutin Suppresses Palmitic Acids-Triggered Inflammation in Macrophages and Blocks High Fat Diet-Induced Obesity and Fatty Liver in Mice [J]. *Pharm Res*, 2013, 30(1):2940-2950.
- [7] Lee CC, Shen SR, Lai YJ. Rutin and quercetin, bioactive compounds from tartary buckwheat, prevent liver inflammatory injury[J]. *Food and Function*. 2013, 4(5):794-802.
- [8] 李光民, 储金秀, 韩淑英. 荞麦花叶中芦丁调解糖脂代谢的作用及机制[J]. *华西药理学杂志*, 2010, 25(4):425-428.
- [9] Molina M F, Sanchez-Reus I, Iglesias I, et al. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects against ethanol-induced oxidative stress in mouse Liver [J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2003, 26(10):1398-1402.
- [10] 王敏, 魏益民, 高锦明. 苦荞黄酮的抗脂质过氧化和红细胞保护作用研究 [J]. *中国食品学报*, 2006, 6(1):278-283.
- [11] Yin J, Luo Y, Deng H, et al. Human Qingzhi medication ameliorates hepatic steatosis by activating AMPK and PPAR α pathways in L02 cells and HepG2 cells [J]. *J Ethnopharmacol.* 2014, 154(1):229-239.
- [12] 李瑜元. 非酒精性脂肪性肝病的研究进展 [J]. *世界华人消化杂志*, 2013, 21(2):109-115.
- [13] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"[J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4):842-845.
- [14] Li Q, Li L, Wang F, et al. Dietary capsaicin prevents nonalcoholic fatty liver disease through transient receptor potential vanilloid 1-mediated peroxisome proliferator-activated receptor- σ activation[J]. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 2013, 9(465):1303-1316.
- [15] Donqiovanni P, Rametta R, Fracanzani AL, et al. Lack of association between peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma2 polymorphisms and progressive liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a case control study [J]. *BMC Gastroenterology*. 2010, 10:102.
- [16] Ziamajidi N, Khaghani S, Hassanzadeh G, et al. Amelioration by chicory seed extract of diabetes-and oleic acid-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)/non-alcoholic steatohepatitis (NASH) via modulation of PPAR α and SREBP-1[J]. *Food Chem Toxicol.* 2013, 58:198-209.
- [17] Hsu WH, Chen TH, Lee BH, et al. Monascins and ankaflavins act as natural AMPK activators with PPAR α agonist activity to down-regulate nonalcoholic steatohepatitis in high-fat diet-fed C57BL/6 mice[J]. *Food Chem Toxicol.* 2014, 64:94-103.
- [18] Ducheix S, Podechard N, Lasserre F. A systems biology approach to the hepatic role of the oxysterol receptor LXR in the regulation of lipogenesis highlights a cross-talk with PPAR α [J]. *Biochimie.* 2013, 95(3):556-567.
- [19] Guzmán C, Benet M, Pisonero-Vaquero S, et al. The human liver fatty acid binding protein (FABP1) gene is activated by FOXA1 and PPAR α ; and repressed by C/EBP α : Implications in FABP1 down-regulation in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Molecular and Cell Biology of Lipids.* 2013, 1831(4):803-818.
- [20] Shi LJ, Shi L, Song GY, et al. Oxymatrine attenuates hepatic steatosis in non-alcoholic fatty liver disease rats fed with high fructose diet through inhibition of sterol regulatory element binding transcription factor 1 (SREBF1) and activation of peroxisome proliferator activated receptor alpha (Ppar α)[J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 714(1-3):89-95.
- [21] Cai Y, Fan C, Yan J, et al. Effects of Rutin on the Expression of PPAR γ in Skeletal Muscles of db/db Mice [J]. *Planta Med*, 2012, 78(9):861-865.
- [22] Kong L, Ren W, Li W, et al. Activation of peroxisome proliferator activated receptor alpha ameliorates ethanol induced steatohepatitis in mice [J]. *Lipids Health Disease*,

- 2011,10:246.
- [23] Wu CH, Lin MC, Wang HC, et al. Rutin Inhibits Oleic Acid Induced Lipid Accumulation via Reducing Lipogenesis and Oxidative Stress in Hepatocarcinoma Cells[J]. Journal of Food Science, 2011, 76(20): 65–72.
- [24] 张艳芳. CPT1 基因对猪脂肪沉积的影响及其调控机制的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [25] Orly J, Schramm M. Fatty acids as modulators of membrane functions: catecholamine-activated adenylate cyclase of the turkey erythrocyte[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1975, 72(9): 3433–3437.
- [26] Shinitzky M, Barenholz Y. Fluidity parameters of lipid regions determined by fluorescence polarization[J]. Biochimica et Biophysica Acta(BBA)–Reviews on Biomembranes, 1978, 515(4): 367–394.
- [27] McGarry JD, Brown NF. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis [J]. Eur J Biochem, 1997, 244(1): 1–14.
- [28] Harris CA, Haas JT, Streeper RS, et al. DGAT enzymes are required for triacylglycerol synthesis and lipid droplets in adipocytes [J]. Journal of Lipid Research. 2011, 52(4): 657–667.
- [29] Yamazaki T, Sasaki E, Kakinuma C, et al. Increased very low density lipoprotein secretion and gonadal fat mass in mice over-expressing liver DGAT1 [J]. Biol Chem, 2005, 280(22): 21506–21514.
- [30] Man WC, Miyazaki M, Chu K, et al. Colocalization of SCD1 and DGAT2 implying preference for endogenous monounsaturated fatty acids in triglyceride synthesis [J]. J Lipid Res, 2006, 47(9): 1928–1939.
- [31] Houde C, Wong KK, Wang SP, et al. Impact of Hepatic GPAT1 or DGAT2 Deficiency on Plasma Lipids and MTP Inhibitor-Induced Elevation of Liver Triglycerides in Mice [J]. Circulation, 2011, 121: A9565.

(编辑: 杨阳)

Rutin Inhibits Oleic Acid Induced Lipogenesis in Hepatocyte Cells via Regulating TG Metabolic Pathway

PAN Ran, DING Bin, HU Linfeng, ZHANG Fuli, DING Lei, FANG Bo, XIE Lufan, DOU Xiaobing[△]
(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: **Objective** To study the role of rutin in TG accumulation in oleic acid induced hepatocyte cells. **Methods** The effect of rutin and OA induced cell death was determined by lactate dehydrogenase (LDH) release assays. Human liver cell line HepG2 was used to establish the cell model by 0.5mmol/L OA. We measured TG level and use oil red O stain to determine whether cell model is successful or not. The level of proteins adducts were determined by Western blotting. The level of gene adducts were determined by Realtime PCR. **Results** Rutin and oleic acid could not increased LDH surge, but cause the oleic acid induced intracellular TG accumulation in HepG2 cells. Rutin could inhibit TG accumulation and DGAT expression in HepG2 cells, increasing the expression of PPAR- α and CPT. **Conclusion** Rutin activates the transcription and translation of PPAR- α in fatty degeneration of HepG2, and promotes the transcription of its target gene CPT and fatty acid degradation. It also prevents the transcription of DGAT, and inhibits oleic acid induced TG accumulation. The results elucidate the prevention and treatment of rutin in nonalcoholic fatty liver disease, provide theoretical and experimental basis for the clinical use of rutin.

KEY WORDS: oleic acid; hepatocyte cells; Rutin; DGAT; CPT