

染料木素对油酸诱导 HepG2 细胞脂质蓄积的影响

张洪敏, 曹世杰, 何昕雅, 邱峰, 张德芹*

(天津中医药大学 中药学院, 天津市现代中药重点实验室, 天津 301617)

[摘要] **目的:** 探讨染料木素改善油酸诱导的 HepG2 细胞脂质蓄积的作用及机制。**方法:** 采用不同浓度的油酸处理 HepG2 细胞 24 h 诱导建立脂质蓄积模型, 12.5, 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的染料木素和油酸共同作用于细胞 24 h, 采用噻唑蓝 (MTT) 比色法测定细胞存活率, 尼罗红和 DAPI 双染观察细胞内脂滴蓄积情况, 并采用试剂盒测定细胞内甘油三酯 (TG) 含量, 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 测定染料木素对脂肪甘油三酯脂肪酶 (ATGL), 激素敏感性脂肪酶 (HSL), 磷酸化 HSL (p-HSL), 沉默信息调节因子 1 (SIRT1), 过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α), 肉毒碱棕榈酰转移酶-1 (CPT-1) 蛋白表达的影响。**结果:** 0.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 油酸及 12.5, 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 染料木素作用细胞 24 h 对细胞存活率无明显影响; 与正常组比较, 模型组细胞中 TG 含量显著升高 ($P < 0.01$), 细胞内脂滴显著增多 ($P < 0.01$), 细胞中 HSL 的磷酸化水平明显下调 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 染料木素可明显降低细胞中 TG 含量 ($P < 0.05, P < 0.01$), 明显减少细胞内脂滴 ($P < 0.05$), 上调细胞中 ATGL, p-HSL/HSL, SIRT1, PPAR α , CPT-1 蛋白表达水平 ($P < 0.05, P < 0.01$)。 **结论:** 染料木素对 HepG2 细胞脂质蓄积模型有明显的改善作用, 其机制可能通过上调 ATGL, p-HSL/HSL, SIRT1, PPAR α , CPT-1 蛋白表达水平, 进而促进脂质的水解和氧化代谢。

[关键词] 染料木素; HepG2 细胞; 油酸; 脂质蓄积; 甘油三酯

[中图分类号] R2-0; R285.5; R575.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)18-0071-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191838

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190603.0910.002.html>

[网络出版时间] 2019-06-04 10:34

Effect of Genistein on Oleic Acid-induced Lipid Accumulation in HepG2 Cells

ZHANG Hong-min, CAO Shi-jie, HE Xin-ya, QIU Feng, ZHANG De-qin*

(Research Institute of Traditional Chinese Medicine (TCM), Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of TCM, Tianjin 301617, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect and mechanism of genistein on oleic acid-induced lipid accumulation in HepG2 cells. **Method:** Lipid accumulation model in HepG2 cells was induced by different concentrations of oleic acid for 24 h, and 12.5, 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ genistein and oleic acid acted on cells for 24 h. Cell viability was determined by methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) assay. Double staining with Nile red and DAPI was used to observe the intracellular lipid droplets. Intracellular triglyceride (TG) content was determined by kit. The protein expression levels of triglyceride lipase (ATGL), hormone-sensitive fatty acid (HSL), phosphorylation HSL (p-HSL), silent information regulator 1 (SIRT1), peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α), carnitine palmitoyl transferase 1 (CPT-1) in oleic acid-induced HepG2 cells were detected by Western blot. **Result:** 0.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ oleic acid and 12.5, 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ genistein had no significant effect on cell viability after treated cells for 24 h. Compared with normal group, the TG content and lipid droplets in oleic acid-induced HepG2 cells was significantly increased ($P < 0.01$), and HSL phosphorylation in oleic acid-induced HepG2 cells was significantly down-regulated ($P < 0.05$); compared with model group, the TG

[收稿日期] 20190412(018)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81430095)

[第一作者] 张洪敏, 在读博士, 从事中药物质基础研究, E-mail: zhmtlt@163.com

[通信作者] *张德芹, 博士, 教授, 从事中药基本理论及临床应用研究, E-mail: deqin123@163.com

content and intracellular lipid droplets in HepG2 cells was significantly decreased after administration of genistein ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Genistein can significantly up-regulate the protein expression levels of ATGL, p-HSL/HSL, SIRT1, PPAR α , and CPT-1 compared with model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Genistein can significantly improve the lipid accumulation in oleic acid-induced HepG2 cells, and its mechanism may be related to up-regulating the protein expression levels of ATGL, p-HSL/HSL, SIRT1, PPAR α , CPT-1, and thus promoting lipid hydrolysis and oxidative metabolism.

[**Key words**] genistein; HepG2 cells; oleic acid; lipid accumulation; triglyceride

非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 由肝脏甘油三酯 (TG) 含量超过肝脏质量 5% 定义^[2], 始于肝脏内非正常脂质蓄积, 包括单纯脂肪变性 (TG 过度积累) 和非酒精性脂肪性肝炎 (NASH), 其特征在脂肪变性、肝细胞损伤和小叶炎症等^[3-5]。近年来, NAFLD 已经成为临床常见的肝脏疾病之一, 且发病率不断上升, 严重影响人们的生活质量^[1]。因此, 对于 NAFLD 的防治刻不容缓, 而 NAFLD 的发病机制尚未完全清楚, 且治疗药物仍存在局限。由于 TG 含量决定脂肪变性, 这成为探究肝脏脂质代谢的关键。

近年来天然产物治疗 NAFLD 的报道越来越多, 且具有很好的药物开发价值。染料木素是一种异黄酮类化合物, 存在于大豆、葛根、三叶草、苜蓿等多种植物中, 对肥胖^[6]、糖尿病^[7] 和心血管疾病^[8] 有一定的治疗作用。有报道染料木素可以通过腺苷酸激活蛋白激酶 (AMPK) 通路降低脂肪酸的生物合成、促进脂肪酸氧化代谢, 从而改善肝细胞脂质蓄积^[9]; 通过改善氧化损伤保护肝脏^[10]; 可以通过靶向血栓素 A₂ 途径改善 NAFLD 等^[11], 但对肝脏 TG 的代谢机制尚不清楚。本研究采用油酸诱导 HepG2 细胞建立脂质蓄积模型, 模拟 NAFLD 病理特征, 考察染料木素对肝细胞脂质蓄积的影响, 并从 TG 水解及氧化代谢角度考察染料木素改善肝细胞脂质蓄积作用的相关分子机制, 为新药的深入研究提供一定的科学依据。

1 材料

1.1 细胞株 人肝癌细胞株 HepG2 细胞, 购于中科院上海细胞库, 传至第 5 代用于实验。

1.2 药物及试剂 染料木素 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 Y19D7C27145, 纯度 $\geq 98\%$); 高糖 DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司, 批号 1972985); 胎牛血清 (FBS, 以色列 Biological Industries 公司, 批号 1803122); 油酸 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号 I1806046); 尼罗红 (Nile Red, 大连美仑生物技术有限公司, 批号 D1219A); 4', 6-二脒基-2-苯

基吡啶 (DAPI), 噻唑蓝 (MTT), 二甲基亚砜 (DMSO) (北京索莱宝科技有限公司, 批号分别为 20181120, 1123A0510, J1830011); TG 试剂盒 (北京普利莱基因技术有限公司, 批号 2018N2AE1013); RIPA 裂解液 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号 P0013C); 化学发光试剂 ECL (美国 Millipore 公司, 批号 1807102); 鼠抗甘油三酯脂肪酸 (ATGL), 鼠抗沉默信息调节因子 1 (SIRT1), 鼠抗过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 一抗 (美国 Santa Cruz Biotechnology 公司, 批号分别为 J3117, H3118, J2918); 兔抗肉毒碱棕榈酰转移酶-1 (CPT-1) 一抗 (美国 Proteintech 公司, 货号 15184-1-AP); 兔抗激素敏感性脂肪酶 (HSL) 一抗 (北京博奥森生物技术有限公司, 批号 OF12021657); 磷酸化兔抗 (p-) HSL (Ser660) 一抗 (美国 Cell Signaling 公司, 货号 4126S); 鼠抗 β -肌动蛋白 (β -actin) 一抗, 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记山羊抗小鼠免疫球蛋白 (Ig) G 二抗, HRP 标记山羊抗兔 IgG 二抗 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号分别为 18AV0311, 137699, 139931)。

1.3 仪器 Neofuge 13R 型台式高速冷冻离心机 [力新仪器 (上海) 有限公司]; CKX41 型倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); Mini-PROTEAN Tetra 型垂直电泳仪及转膜仪 (美国 Bio-Rad 公司); 全自动化学发光成像分析系统 (中国上海天能科技有限公司); Flex Station 3 型多功能酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司); Operetta 型高内涵筛选系统 (美国 PerkinElmer 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 将 HepG2 细胞接种在培养瓶中, 用含 10% FBS 血清, 1% 青霉素-链霉素的高糖型 DMEM 培养液在 37 °C 5% CO₂ 条件下培养。细胞 80% 融合后, 弃去培养液, 加入胰酶消化, 每 3 d 按 1:3 比例传代 1 次, 取对数生长期的细胞进行后续实验。

2.2 油酸诱导 HepG2 细胞脂质蓄积模型的建立及染料木素对细胞存活率的影响 将对数生长期的细

胞消化后,按 1.2×10^4 个细胞/孔接种于 96 孔培养板中, 37°C $5\% \text{CO}_2$ 培养箱中温育 24 h, 加入不同浓度油酸 ($0.25 \sim 4.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 探讨油酸不同浓度对细胞增殖的影响, 选择最适浓度的油酸进行诱导; 在诱导的同时加入受试药, 用含 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 油酸的完全培养液稀释, 使染料木素低、中、高浓度分别为 $12.5, 25, 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[12]。细胞继续培养 24 h, 移除上清液, 每孔 (96 孔板) 加入 MTT $100 \mu\text{L}$ 培养液, 37°C 继续培养。待培养 2.5 h 后, 弃去上清液, 每孔加入 DMSO $150 \mu\text{L}$, 震荡 10 min, 用酶标仪在 490 nm 波长下测定各孔的吸光度, 以检测细胞存活率。

2.3 细胞内脂质蓄积及 TG 含量的测定 HepG2 细胞于 96 孔培养板中培养 24 h, 用含 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 油酸的完全培养液稀释染料木素, 使其低中高浓度分别为 $12.5, 25, 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 继续培养 24 h, 用 10% 的甲醛溶液室温固定 30 min, 移去固定液后分别用终浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的尼罗红和 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DAPI 染色液对细胞进行染色, 用 Operetta 高内涵筛选系统进行检测, 选取细胞个数大致相同的视野并对视野中细胞荧光强度等信息进行量化统计。HepG2 细胞于 6 孔培养板中培养, 将细胞分为正常组、模型组和给药组, 加药诱导后, 收集各组细胞采用多功能酶标仪, 按照 TG 试剂盒说明书检测细胞内 TG 含量。

2.4 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 测定 ATGL, SIRT1, PPAR α , HSL, p-HSL, CPT-1 蛋白的表达 按 2.3 项下方法, HepG2 细胞于 6 孔培养板中培养, 将细胞分为正常组、模型组和染料木素组, 加药诱导后,

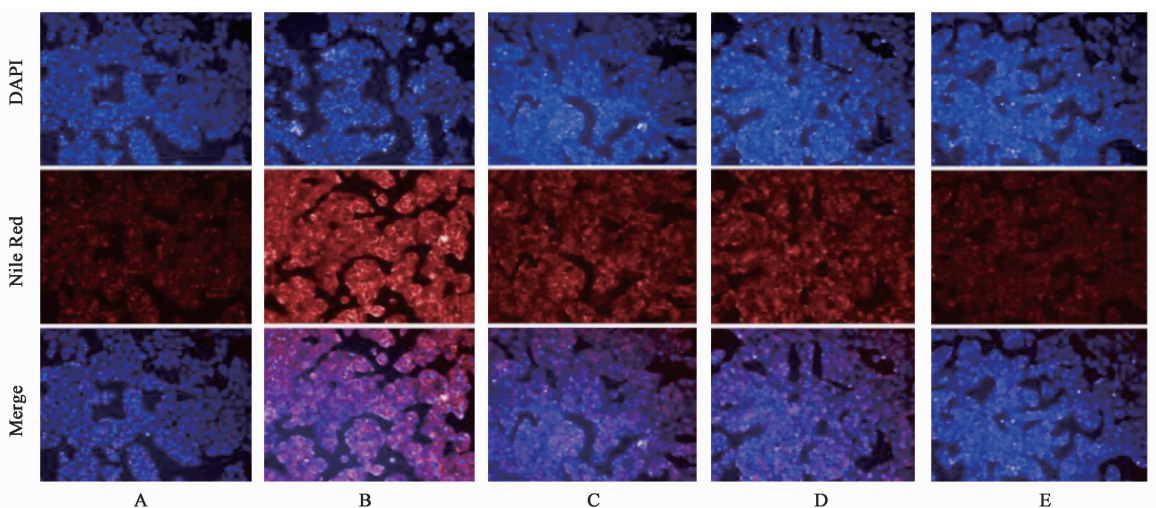
收集各组细胞, 加入 RIPA 裂解液提取总蛋白, 按 BCA 蛋白定量试剂盒说明测定蛋白浓度。取蛋白样品 $30 \mu\text{g}$ 上样, 进行 SDS-PAGE 电泳, 转膜, 封闭。加入相应一抗 (ATGL, SIRT1 和 PPAR α 抗体稀释比例均为 $1:100$, HSL, p-HSL, CPT1 抗体稀释比例均为 $1:500$, β -actin 抗体稀释比例为 $1:3000$), 4°C 孵育过夜, TBST 溶液洗膜, 二抗 ($1:3000$) 室温孵育 1.5 h, TBST 溶液洗膜, 加入 ECL 发光液, 采用 Tanon 全自动化学发光成像分析系统曝光成像, 保存图像。采用 Image J 图像分析软件分析蛋白条带灰度值。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行处理, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据分析采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 油酸和染料木素对 HepG2 细胞存活率的影响 与正常组比较, 当油酸浓度 $\leq 0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 油酸对细胞的生长无显著抑制。12.5, 25, $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 染料木素对细胞的生长无显著抑制。进一步, 将 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的油酸与 12.5, 25, $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 染料木素共同作用于细胞 24 h 检测各组存活率, 各组细胞存活率均 $>90\%$, 说明在此浓度下染料木素对油酸诱导的 HepG2 细胞没有明显的生长抑制作用。

3.2 染料木素对 HepG2 细胞模型脂质蓄积的影响 与正常组比较, 模型组细胞中尼罗红染色荧光强度显著增强 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 染料木素高、中、低浓度组的荧光强度均明显降低 ($P < 0.05$)。见图 1, 表 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 染料木素低浓度组; D. 染料木素中浓度组; E. 染料木素高浓度组 (图 2 同)

图 1 染料木素对 HepG2 细胞模型脂质蓄积的影响 (双荧光, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of genistein on intracellular lipid accumulation in HepG2 cells (double fluorescence, $\times 200$)

3.3 染料木素对油酸诱导的 HepG2 细胞中 TG 含量的影响 与正常组比较,模型组细胞中 TG 含量显著增加 ($P < 0.01$);与模型组比较,染料木素高、中浓度能明显降低细胞中 TG 含量 ($P < 0.05, P < 0.01$),染料木素低浓度对 TG 含量的调节无统计学差异。见表 1。

表 1 染料木素对 HepG2 细胞中脂质荧光强度和 TG 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of genistein on fluorescence intensity and TG level in HepG2 cells ($\bar{x} \pm s$)

组别	油酸浓度 /mmol·L ⁻¹	药物浓度 /μmol·L ⁻¹	平均荧光强度 (n=3)	TG 含量 /mmol·L ⁻¹ (n=6)
正常	-	-	17.68 ± 2.44	1.06 ± 0.61
模型	0.5	-	29.37 ± 2.67 ¹⁾	8.76 ± 0.55 ¹⁾
染料木素	0.5	12.5	19.81 ± 2.85 ²⁾	8.26 ± 1.80
	0.5	25	20.49 ± 4.27 ²⁾	6.95 ± 1.23 ²⁾
	0.5	50	18.37 ± 5.46 ²⁾	6.85 ± 1.25 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.4 染料木素对油酸诱导的 HepG2 细胞中 ATGL, HSL, p-HSL, SIRT1, PPARα, CPT-1 蛋白表达的影响

表 2 染料木素对油酸诱导的 HepG2 细胞中 ATGL, p-HSL/HSL, SIRT1, PPARα, CPT-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of genistein on protein expression of ATGL, p-HSL/HSL, SIRT1, PPARα, CPT-1 in OA-induced HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	油酸浓度 /mmol·L ⁻¹	药物浓度 /μmol·L ⁻¹	ATGL /β-actin	p-HSL /HSL	SIRT1 /β-actin	PPARα /β-actin	CPT-1 /β-actin
正常	-	-	0.76 ± 0.32	1.08 ± 0.13	0.46 ± 0.14	0.93 ± 0.21	0.55 ± 0.30
模型	0.5	-	0.70 ± 0.07	0.83 ± 0.05 ¹⁾	0.83 ± 0.30	0.94 ± 0.12	0.73 ± 0.08
染料木素	0.5	12.5	1.07 ± 0.24 ²⁾	0.69 ± 0.08	0.99 ± 0.25	1.18 ± 0.16	0.85 ± 0.17
	0.5	25	1.11 ± 0.25 ²⁾	0.90 ± 0.04	1.56 ± 0.27 ²⁾	1.29 ± 0.24 ²⁾	1.04 ± 0.12 ³⁾
	0.5	50	1.25 ± 0.23 ³⁾	1.52 ± 0.08 ³⁾	1.44 ± 0.20 ²⁾	1.36 ± 0.03 ³⁾	1.29 ± 0.17 ³⁾

4 讨论

肝脏脂肪异位堆积是 NAFLD 的前提,也是肝脏脂质流入与清除不平衡的表现^[13]。虽然 NAFLD 的机制尚未完全阐明,“两次打击”假说表明脂肪变性是“第一次打击”,氧化应激、肠道衍生内毒素或促炎细胞因子等使肝脏受到“第二次打击”^[14],从而进一步造成肝损伤。NAFLD 以肝细胞内显著的脂质沉积(以 TG 为主要形式)和肝脏酶的持续异常为特征^[15-16]。而肝脏中的脂肪酸通过自噬从溶酶体中释放或通过从血浆中主动吸收游离脂肪酸来获得,经进一步加工形成 TG 储存或快速代谢^[17]。因此 NAFLD 的发生发展与脂肪酸和 TG 的代谢过程紧密相关。本实验采用油酸诱导 HepG2 细胞建立

与正常组比较,模型组细胞中 HSL 的磷酸化水平显著下调;与模型组比较,高中低浓度染料木素均能明显上调 ATGL 的蛋白表达 ($P < 0.05, P < 0.01$),染料木素高、中浓度组能明显上调 SIRT1, PPARα, CPT-1 的蛋白表达 ($P < 0.05, P < 0.01$),染料木素高浓度组能显著上调 HSL 的磷酸化水平 ($P < 0.01$)。见图 2,表 2。

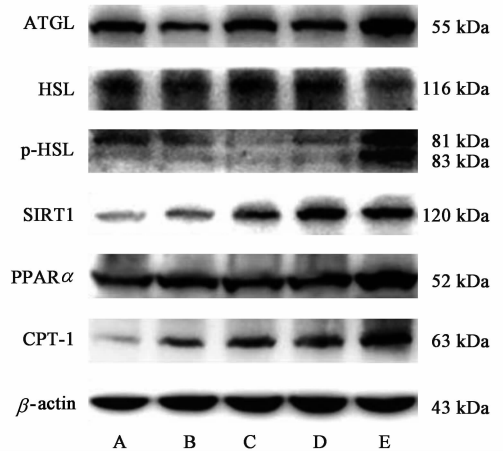


图 2 染料木素对油酸诱导的 HepG2 细胞中 ATGL, HSL, p-HSL, SIRT1, PPARα, CPT-1 蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of genistein on protein expression of ATGL, HSL, p-HSL, SIRT1, PPARα, CPT-1 in OA-induced HepG2 cells

脂质蓄积模型,模拟 NAFLD 中单纯性肝脂肪变性,加入 0.5 mmol·L⁻¹ 油酸诱导 24 h 后,细胞中 TG 含量明显增加,表明建模成功。采用尼罗红和 DAPI 双染并测定细胞中脂质蓄积情况表明 0.5 mmol·L⁻¹ 油酸可以使细胞中脂质含量明显升高。给予染料木素后可以明显降低细胞内 TG 含量,明显降低细胞脂质蓄积。

细胞中 TG 的代谢消除离不开多种酶的共同作用。文献报道通过对小鼠研究发现 ATGL 和 HSL 占据了白色脂肪组织中 95% 以上的 TG 水解酶活性^[18],是最主要的脂肪分解酶。ATGL 是近年来发现的可以特异性水解 TG 的酶,分布于多种组织器官,是一种肝脏主要的 TG 脂肪酶^[19],主要分解 TG

成甘油二酯。HSL 是细胞内的中性脂肪酶,可以催化二酰甘油水解产生一酰甘油,再经一酰甘油酶进一步催化为脂肪酸和甘油^[20]。ATGL 的过表达可以提高 PPAR α 的活性^[21],激活 PPAR α 信号通路和脂肪酸通道,进而促进脂质代谢。研究表明,ATGL 能促进 SIRT1 活性,SIRT1 可以介导 ATGL 对 PPAR α /PGC-1 信号途径的作用,调节肝脏氧化代谢过程^[22]。因此,肝脏 ATGL 蛋白表达或活性的变化对于 NAFLD 等代谢性疾病的发生发展有重要作用。本研究结果显示染料木素能够上调 ATGL, p-HSL/HSL, SIRT1, PPAR α , CPT-1 蛋白表达水平,表明染料木素可能通过促进 TG 的水解进而影响脂肪酸的氧化代谢,从而减轻肝细胞中的脂质蓄积。但由于 NAFLD 是一种复杂的代谢性疾病,影响该疾病发生发展的因素很多,本实验仅从脂质水解及氧化方面探讨染料木素对肝脏脂质蓄积的影响,更深入的机制探讨有待进一步研究。

[参考文献]

[1] CAO P, HUANG G, YANG Q, et al. The effect of chitooligosaccharides on oleic acid-induced lipid accumulation in HepG2 cells[J]. Saudi Pharm J, 2016, 24(3) :292-298.

[2] Kwon E, KANG M, Kim S, et al. Zanthoxylum ailanthoides suppresses oleic acid-induced lipid accumulation through an activation of LKB1/AMPK pathway in HepG2 cells [J]. Evid-Based Compl Alt, 2018, doi:10.1155/2018/3140267.

[3] ZENG L, TANG W, YIN J, et al. Alisol a 24-acetate prevents hepatic steatosis and metabolic disorders in HepG2 cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 40(3/4) : 453-464.

[4] HUANG W, CHEN Y, LIU H, et al. Ginkgolide C reduced oleic acid-induced lipid accumulation in HepG2 cells[J]. Saudi Pharm J, 2018, 26(8) :1178-1184.

[5] 徐立,符晶,方芳,等. 加味茵陈五苓散治疗湿热蕴结型非酒精性脂肪性肝病的疗效及对肠道菌群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(12) :127-132.

[6] SHEN H, HUANG S, Kung C, et al. Genistein ameliorated obesity accompanied with adipose tissue browning and attenuation of hepatic lipogenesis in ovariectomized rats with high-fat diet [J]. J Nutr Biochem, 2019, 67 :111-122.

[7] Behloul N, WU G. Genistein: a promising therapeutic agent for obesity and diabetes treatment [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 698(1/3) :31-38.

[8] GAN M, ZHENG T, SHEN L, et al. Genistein reverses isoproterenol-induced cardiac hypertrophy by regulating miR-451/TIMP2 [J]. Biomed Pharmacother, 2019,

112;108618.

[9] ZHONG H, LIU H, JIANG Z. Genistein ameliorates fat accumulation through AMPK activation in fatty acid-induced BRL cells [J]. J Food Sci, 2017, 82(11) : 2719-2725.

[10] Mohamed S S, Nallasamy P, Muniyandi P, et al. Genistein improves liver function and attenuates non-alcoholic fatty liver disease in a rat model of insulin resistance[J]. J Diabetes, 2009, 1(4) :278-287.

[11] WANG W, CHEN J, MAO J, et al. Genistein ameliorates non-alcoholic fatty liver disease by targeting the thromboxane A₂ pathway[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(23) :5853-5859.

[12] 吴丹,邓颖勋,王宇琦,等. 染料木黄酮对脂肪变 HepG2 细胞甘油三酯水平和 Lipin1 表达的影响[J]. 营养学报, 2013, 35(4) :353-356.

[13] Rafiei H, Omidian K, Bandy B. Dietary polyphenols protect against oleic acid-induced steatosis in an *in vitro* model of NAFLD by modulating lipid metabolism and improving mitochondrial function[J]. Nutrients, 2019, 11(3) :541.

[14] Day C P, James O F. Steatohepatitis: a tale of two "hits" ?[J]. Gastroenterology, 1998, 114(4) :842-845.

[15] El-Kader S M A. Non-alcoholic fatty liver disease: the diagnosis and management[J]. World J Hepatol, 2015, 7(6) :846.

[16] 孙秀芹. 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝相关因素分析[J]. 中国预防医学杂志, 2019, 20(1) :78-80.

[17] Bechmann L P, Hannivoort R A, Gerken G, et al. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases[J]. J Hepatol, 2012, 56(4) :952-964.

[18] Schweiger M, Schreiber R, Haemmerle G, et al. Adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase are the major enzymes in adipose tissue triacylglycerol catabolism [J]. J Biol Chem, 2006, 281(52) : 40236-40241.

[19] Ong K T, Mashek M T, BU S Y, et al. Adipose triglyceride lipase is a major hepatic lipase that regulates triacylglycerol turnover and fatty acid signaling and partitioning[J]. Hepatology, 2011, 53(1) :116-126.

[20] 黄文钰,李向平. 脂肪细胞三酰甘油分解代谢相关调节的研究进展[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2013, 33(3) :230-234.

[21] Sapiro J M, Mashek M T, Greenberg A S, et al. Hepatic triacylglycerol hydrolysis regulates peroxisome proliferator-activated receptor alpha activity[J]. J Lipid Res, 2009, 50(8) :1621-1629.

[22] Khan S A, Sathyanarayan A, Mashek M T, et al. ATGL-catalyzed lipolysis regulates SIRT1 to control PGC-1 α /PPAR α signaling[J]. Diabetes, 2015, 64(2) :418-426.

[责任编辑 孙丛丛]