

胆酸通过上调 miR-23b-3p 抑制载脂蛋白 A 表达

田永凤^{1,2}, 莫学靓², 雷建军², 刘亚密², 白洁³, 王佐²

(1. 山东省临沂市妇女儿童医院病理科, 山东省临沂市 276000; 2. 南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 3. 南华大学附属第一医院功能科, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 胆酸; 载脂蛋白 A; HepG2 细胞; miR-23b-3p

[摘要] 目的 分析胆酸降载脂蛋白 A (ApoA) 效应与 miR-23b-3p 的关系, 研究胆酸降 ApoA 作用新机制。方法 首先用生物信息学在线工具对 miR-23b-3p 与调控 LPA 基因的转录因子肝细胞核因子 4 γ (HNF4 γ) 进行靶基因分析, 使用荧光素酶报告系统对 miR-23b-3p 与调控 LPA 基因的转录因子 HNF4 γ 进行靶基因验证实验, Western blot 检测 ApoA 表达水平、p38MAPK (MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶) 及 p-p38MAPK, 实时定量 PCR 检测 miR-23b-3p 表达水平。结果 生物信息学分析表明 HNF4 γ 可作为 miR-23b-3p 的靶基因, 荧光素酶报告系统转染 miR-23b-3p 处理组细胞裂解后荧光强度显著低于对照组, 验证了 HNF4 γ 可作为 miR-23b-3p 的靶基因。胆酸呈剂量和时间依赖性抑制 HepG2 细胞 ApoA 的表达, 以 32 mg/L 和 24 h 的作用最显著。胆酸抑制 ApoA 表达与活化 MAPK 和上调 miR-23b-3p 有关。结论 胆酸呈剂量和时间依赖性地下调 HepG2 细胞 ApoA 表达水平; 胆酸降 ApoA 与上调 miR-23b-3p 有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Bile Acid Inhibits Apolipoprotein A Expression in HepG2 Cells by Up-regulation of miR-23b-3p

TIAN Yong-Feng^{1,2}, MO Xue-Liang², LEI Jian-Jun², LIU Ya-Mi², BAI Jie³, and WANG Zuo²

(1. Department of Pathology, Linyi Women and Children Hospital, Linyi, Shandong 276000, China; 2. Institute of Cardiovascular Diseases & Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 3. Department of Function, First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Bile Acid; Apolipoprotein A; HepG2 Cell; miR-23b-3p

[ABSTRACT] **Aim** To analyze the relationship between the effect of bile acid reducing the level of apolipoprotein A (ApoA) and the expression of miR-23b-3p, and to find new mechanisms of bile acid reducing the level of ApoA.

Methods The target genes of miR-23b-3p and transcription factor hepatocyte nuclear factor 4 γ (HNF4 γ) regulating the LPA gene were analyzed by bioinformatics online tools Targetscan 7.0. Luciferase reporter assay was used to test target gene relationship for miR-23b-3p. Protein expression of ApoA, mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) and p-p38MAPK were detected by Western blot in HepG2 cells, and miR-23b-3p expression was measured by real-time quantitative polymerase chain reaction.

Results Bioinformatics analysis indicated that HNF4 γ could act as a target gene of miR23b-3p. The fluorescent intensity of miR-23b-3p transfection cells was significantly lower than that of control group by using luciferase report assay, and it meant that HNF4 γ could act as a target gene of miR23b-3p. Bile acid restrained ApoA expression in HepG2 cells in a dose- and time-dependent manner, and 32 mg/L and 24 h were the best action dose and time. Bile acid restraining the ApoA expression was related to the activation of MAPK and the up-regulation of miR-23b-3p. Moreover, it could regulate the expressions of miR-23b-3p, farnesyl X receptor and MAPK.

Conclusion Bile acid can significantly down-regulate ApoA expression in HepG2 cells by a dose- and time-dependent manner, its mech-

[收稿日期] 2015-10-28

[修回日期] 2015-12-26

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81070221); 湖南省卫生厅课题(B2013-034)

[作者简介] 田永凤, 硕士, 主治医师, 研究方向为心血管病学, E-mail 为 tianyongfengxw@126.com。莫学靓, 硕士, 主治医师, 研究方向为脑血管病学, E-mail 为 178850704@qq.com。通讯作者王佐, 博士, 教授, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制与防治, E-mail 为 smt121101@163.com。

anism is related to up-regulating the expression of miR-23b-3p.

脂蛋白(a) [lipoprotein(a), Lp(a)] 由载脂蛋白 A (apolipoprotein A, ApoA) 和 ApoB100 经二硫键连接而成。血浆中 Lp(a) 的浓度变化很大, 这种差异主要是由 LPA 基因本身所决定^[1]。高水平 Lp(a) 被认为是动脉粥样硬化的独立危险因素。大量研究表明, Lp(a) 水平主要受 LPA 基因控制, 药物和食物对其作用不大, 目前尚无理想的降低 Lp(a) 浓度的药物。故促进了从基因调控入手研究降 Lp(a) 的基因手段的出现, 如 Mipomersen 反义核苷酸^[2] 和 RNAi 技术^[3]。但由于反义核苷酸和 shRNA 都是外源性的, 其安全性无法保证, 寻找内源性的调控 LPA 基因的微小 RNA (microRNA, miR) 更具价值。前期研究发现 miR-23b-3p 能下调 ApoA 的表达, 故本研究拟分析 miR-23b-3p 针对调控 LPA 基因表达的肝细胞核因子 4 γ (hepatocyte nuclear factor 4 γ , HNF4 γ) 进行靶基因分析, 然后分析胆酸调控 ApoA 表达与法尼基衍生物 X 受体 (farnesyl X receptor, FXR) 和 miR-23b-3p 的关系, 及其与丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 的关系, 发现胆酸调控 ApoA 表达的新途径。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

HepG2 细胞购自上海复旦大学生命科学学院; 胎牛血清购自杭州四季青生物公司, 甘氨酸、Tris-base、SDS、Tween-20 和 DEPC 购自美国 Amersco 公司, 羊抗人 ApoA 一抗购自 Abnova 公司, BCA 蛋白含量测定试剂、HRP 标记链霉亲和素、小鼠抗人 β -actin 一抗购自北京康为世纪生物科技有限公司, HRP 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)、ECL Plus 化学发光试剂盒购自碧云天生物技术研究所, miRNA 模拟物由广州市锐博生物科技有限公司合成, PCR SuperMix 购自 Invitrogen 公司, pGL4 质粒、双荧光酶报告基因检测试剂盒购自 Promega 公司; X-treme GENE HP DNA 转染试剂购自 Roche 公司, 胆酸购自美国 CA 公司, FXR 拮抗剂 GS 购自 Calbiochem 公司。其他试剂均为进口或国产分析纯。

1.2 Targetscan 预测以 HNF4 γ 为靶基因的 miR

进入 <http://www.targetscan.org/>, 根据提示操作, 实现对以 HNF4 γ 为靶基因的 miR 的预测。

1.3 靶基因验证实验

根据 HNF4 γ mRNA 3'-UTR 序列中 miR-23b-3p

作用靶点设计引物, 使产物包含该靶点序列。正向引物: 5'-TGGACGGGAGACAGACTGAAGCAT-3', 反向引物: 5'-GGCATAGCTGGTAGCTGGGAACA-3', 产物长度 123 bp。以逆转录所得 cDNA 为模板进行 PCR 扩增目的片段, 反应条件: 预变性 94 $^{\circ}$ C 5 min, 循环: 94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 35 个循环, 最后延伸 72 $^{\circ}$ C 5 min。2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 结果。回收目的 DNA 片段并纯化。Fse I 和 1 μ L Xba I 双酶切。用 Promega 快速连接系统将纯化的 PCR 扩增片段与 pGL3 载体连接。质粒抽提, 转染。转染 48 h 后, 弃去培养基, 加入 PBS 洗 3 遍, 除去 PBS。加入 100 μ L 细胞裂解液充分裂解后, 加入萤光素酶检测试剂 II 产生萤火虫萤光信号, 测量萤火虫萤光素酶报告基因。定量萤火虫萤光强度之后, 再加入 Stop & Glo[®] 试剂, 将上述反应猝灭, 并同时启动萤光素酶反应, 进行第 2 次测量。

1.4 Western blot

将所提取蛋白 12000 r/min 离心 5 min 后上样, 总蛋白上样量为 40 μ g。80 V 电泳 30 min 后转为 150 V 电泳 90 min。卸开制胶玻璃板, 将 SDS-PAGE 转入转膜液中浸泡 15 min。将二氟化树脂 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜于甲醇中浸泡 15 s, 转入去离子水中慢摇浸泡 2 min, 再转入转膜液中浸泡 5 min。300 mA 恒流转移 4 h, 冰水浴, 中途更换冰袋。到时间后, 用塑料镊子将 PVDF 膜转至去离子水中清洗 30 s 后转入甲醇中浸泡 15 s, 再将 PVDF 膜移至干净滤纸上, 晾干 15~20 min。PVDF 膜完全晾干后 (由半透明变为不透明), 移至甲醇浸泡 15 s, 去离子水浸泡清洗 30 s, 丽春红染色 1 min 后, 去离子水清洗检查转膜效果。然后 PBS 清洗 5 min, 重复 2 次, 去除丽春红。1% 牛血清白蛋白封闭液室温封闭 2 h, 用 PBS 稀释一抗, 稀释度为 1:4000, 室温孵育 2 h。PBS 清洗 PVDF 膜 10 min, 重复 3 次。用 PBS 稀释二抗, 稀释度 1:5000, 室温孵育 1 h。PBS 清洗 PVDF 膜 10 min, 重复 3 次。去除 PVDF 膜上 PBS, 滴加足量 ECL Plus, 孵育 1 min 后, 盖上透明塑料膜, 放上胶片, 曝光适当时间。将胶片移入显影液中, 待显出明显条带, 转入定影液中定影。

1.5 实时定量 PCR 检测 miR-23b-3p 表达

总 RNA 的提取按照说明书操作, 将冰冻细胞溶解在 700 mL 的 Qiazol 试剂中, 用 miR Neasy 试剂盒提取总的小分子 RNA。然后将 RNA 样本储存在 -80 $^{\circ}$ C 中。miR 反转录使用 TaqMans microRNA 逆转

录试剂盒(应用生物技术公司,美国),PCR 反应使用 Taq-Mans Universal PCR Master Mix system 逆转录试剂盒(应用生物技术公司,美国)。50 ng 小 RNA 转换为互补的 DNA,加入 miR 引物,miR 的转录水平通过与内参 U6B 比较得到其相对含量,每个样本按照上述重复 3 次。

1.6 统计学分析

实验所得数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用标准差分析和 t 检验的统计学方法,用 Graphpad Prism 5.0.1 对数据进行分析并作图,选取 95% 可信区间, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

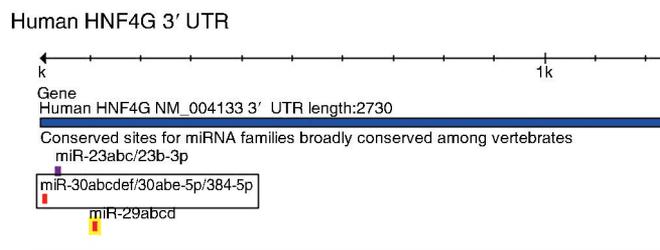


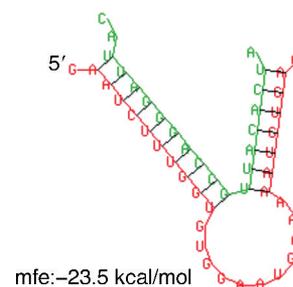
图 1. Targetscan 预测以 HNF4 γ 为靶基因的 miR

Figure 1. Targetscan prediction to HNF4 γ as miR target gene

2 结果

2.1 Targetscan 预测以 HNF4 γ 为靶基因的 miR

进入 <http://www.targetscaan.org/>, 点击“Submit”。在新的页面中点击“HNF4G (即 HNF4 γ)”, 获得图 1, 明显可见在 HNF4G 的 3'-UTR 有 miR-23b-3p 的结合位点, 且其结合的自由能很低, 仅为 -23.5 kcal/mol, 远低于参考标准值 -10 kcal/mol, 表明二者之间有稳定的结合。



2.2 靶基因验证实验

pGL4+HNF4 γ mRNA 3'-UTR+miR-23b-3p 模拟物组荧光强度显著低于 pGL4+HNF4 γ mRNA 3'-UTR 组, pGL4+HNF4 γ mRNA 3'-UTR+miR-23b-3p 模拟物+miR-23b-3p 抑制剂组荧光强度显著高于 pGL4+HNF4 γ mRNA 3'-UTR+miR-23b-3p 模拟物组。以上结果表明 HNF4 γ 可作为 miR-23b-3p 的靶基因, 证实了生物信息学的预测结果(图 2)。

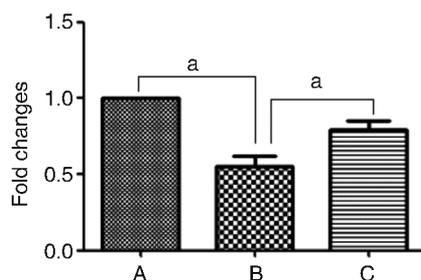


图 2. 荧光素酶基因报告系统进行 miR-23b-3p 靶基因验证 ($n=3$) A 为 pGL4+HNF4 γ mRNA 3'-UTR 组; B 为 pGL4+HNF4 γ mRNA 3'-UTR+miR-23b-3p 模拟物组; C 为 pGL4+HNF4 γ mRNA 3'-UTR+miR-23b-3p 模拟物+miR-23b-3p 抑制剂组。a 为 $P < 0.05$ 。

Figure 2. Target gene validation of miR-23b-3p by luciferase gene report system ($n=3$)

2.3 胆酸降 ApoA 表达的剂量与时间效用

使用 0、0.5、2、8、32 mg/L 的胆酸作用 24 h, HepG2 细胞 ApoA 表达水平随胆酸浓度的增加而下降, 但 0.5 mg/L 胆酸与对照组比较差异不显著, 其他各浓度组与对照组比较差异显著, 以 32 mg/L 的作用最明显, 其 ApoA 表达水平下降 4 倍(图 3)。而且胆酸对 HepG2 细胞 ApoA 的表达水平具有明显的时间效用, 6 h 就具有显著降 ApoA 效用 ($P < 0.05$), 随时间延长, 胆酸降 ApoA 效用越明显, 24 h 为最大降 ApoA 效用的时间点, 48 h 降 ApoA 效用有所回落, 其后有上移的趋势, 但与 24 h 比较无显著性差异(图 4)。故后面的实验选择胆酸浓度为 32 mg/L, 作用时间为 24 h。

2.4 胆酸抑制 ApoA 表达与 MAPK 和 miR-23b-3p 有关

使用 MAPK 拮抗剂 SB203580 后, 胆酸下调 ApoA 蛋白表达能力显著下降, 加入 anti-miR-23b-3p 结果与加入 SB203580 的趋势相同, 两者 ApoA 蛋白表达水平均显著高于胆酸组 ($P < 0.05$)。HepG2 细胞对照组、HepG2 细胞+32 mg/L 胆酸+SB203580 组、HepG2 细胞+32 mg/L 胆酸+anti-miR-23b-3p 组之间差异没有显著性 ($P > 0.05$; 图 5)。

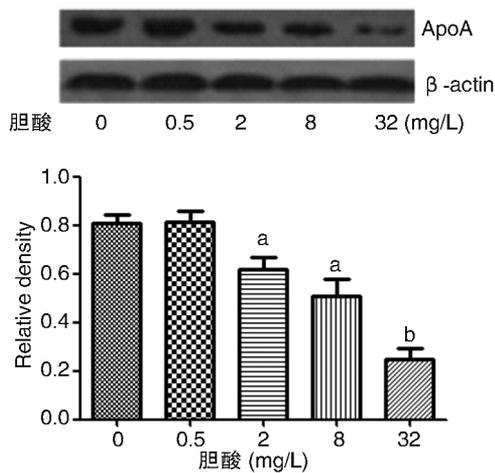


图3. 不同剂量胆酸对 HepG2 细胞 ApoA 表达的影响 ($n=3$) a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与 0 mg/L 胆酸组比较。

Figure 3. Effect of different doses of bile acid on ApoA expression in HepG2 cells ($n=3$)

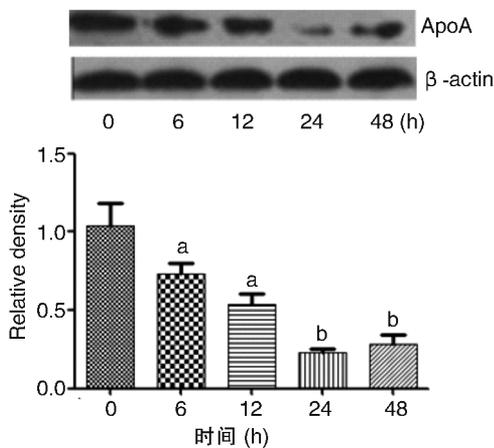


图4. 胆酸降 ApoA 表达的时间效用 ($n=3$) a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与 0 h 组比较。

Figure 4. Time effect of bile acid on ApoA expression ($n=3$)

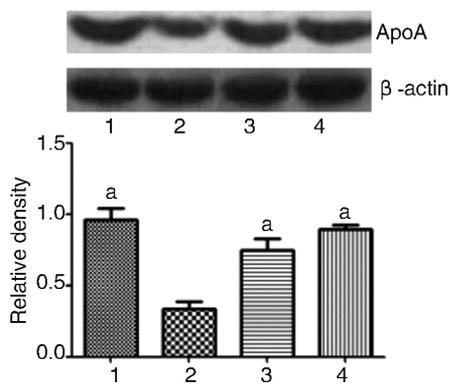


图5. 胆酸抑制 ApoA 表达与 MAPK 和 miR-23b-3p 有关 ($n=3$) 1 为 HepG2 细胞对照组, 2 为 32 mg/L 胆酸作用 24 h 组, 3 为 10 mg/L SB203580 组, 4 为 anti-miR-23b-3p 转染组。a 为 $P<0.05$, 与 32 mg/L 胆酸作用 24 h 组比较。

Figure 5. The bile acid suppressing ApoA expression is related to MAPK and miR-23b-3p ($n=3$)

2.5 胆酸活化 MAPK 并上调 miR-23b-3p 表达

2.5.1 胆酸活化 MAPK 加入胆酸后, MAPK 的磷酸化水平显著增强, 其与对照组比较有显著性差异 ($P<0.01$), 而加入 FXR 特异性拮抗剂 GS 后, MAPK 的磷酸化水平显著下降, 与胆酸组比较有显著性差异 ($P<0.05$); 但 HepG2 细胞+GS 组显著低于 HepG2 细胞+32 mg/L 胆酸+GS 组 ($P<0.05$), 而与对照组比较也有显著差异 ($P<0.05$); 这其一可能是 HepG2 细胞中 MAPK 存在一定的基础磷酸化水平, 而这种基础磷酸化水平与 FXR 有一定的关系; 其二可能是 MAPK 的磷酸化不单受 FXR 的调控, 还受其他因子的调控, 故单独抑制 FXR 不足以把 MAPK 的磷酸化水平下调到基础水平, 两者相比较, HepG2 细胞+32 mg/L 胆酸+GS 组的磷酸化水平显著高于 HepG2 细胞对照组 ($P<0.05$), HepG2 细胞+GS 组也显著高于 HepG2 细胞对照组 ($P<0.05$; 图 6)。

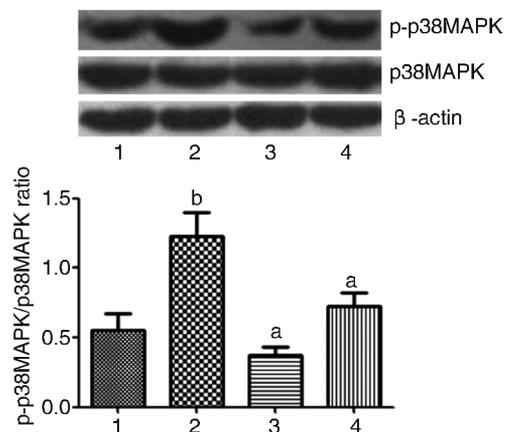


图6. 胆酸活化 MAPK ($n=3$) 1 为 HepG2 细胞对照组, 2 为 HepG2 细胞+胆酸组, 3 为 HepG2 细胞+GS 组, 4 为 HepG2 细胞+胆酸+GS 组。a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与 HepG2 细胞对照组比较。

Figure 6. MAPK activation by bile acid ($n=3$)

2.5.2 胆酸上调 miR-23b-3p 表达与 FXR 及 MAPK 有关

加入胆酸后, miR-23b-3p 的转录水平显著上调 ($P<0.01$), 而在加入 MAPK 拮抗剂 SB203580、FXR 拮抗剂 GS 进行干预后, miR-23b-3p 表达水平显著回落, 其中加入 MAPK 拮抗剂 SB203580 回落不如 FXR 拮抗剂 GS 幅度大, 后者可回落至对照组水平 (与对照组相比, 差异不显著, $P>0.05$), 而加入 MAPK 拮抗剂 SB203580 回落幅度有限, 其 miR-23b-3p 表达水平仍然显著高于除胆酸组外的其他各组 ($P<0.01$; 图 7); 这可能因为 miR-23b-3p 的转录表达不单受到 MAPK 的调控, 还可能受到其他因子的影响, 而 FXR 可能在 miR-23b-3p 的转录表达中发

挥主要作用,故抑制 FXR 能很大程度上抑制 miR-23b-3p 的转录表达水平。

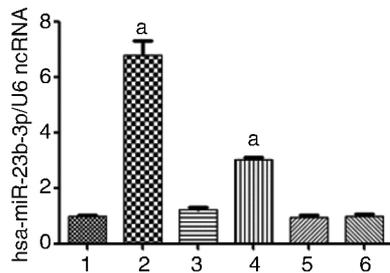


图 7. 胆酸上调 miR-23b-3p 表达与 FXR 及 MAPK 有关 ($n=3$) 1 为 HepG2 细胞对照组, 2 为 HepG2 细胞+胆酸组, 3 为 HepG2 细胞+胆酸+GS 组, 4 为 HepG2 细胞+胆酸+SB203580 组, 5 为 HepG2 细胞+GS 组, 6 为 HepG2 细胞+SB203580 组。a 为 $P<0.01$, 与其他各组比较。

Figure 7. Bile acid regulating miR-23b-3p expression is related to MAPK and FXR ($n=3$)

3 讨论

Lp(a) 水平主要受 LPA 基因控制, 药物和食物对其作用不大, 全基因组关联分析 (genome-wide linkage and association studies, GWA) 表明 Lp(a) 的血浆水平主要与 6 号染色体 (6q27) LPA 的基因座有关^[4], 虽然现有的 GWA 分析由于方法和条件的局限性未找到影响 Lp(a) 血浆水平的基因座, 但 ApoA 在转录水平受其他基因调控, 这一点反过来支持存在其他基因座影响 ApoA 表达水平的可能性, 因此也重新激起科研人员从转录水平降 Lp(a) 的兴趣。HNF 家族包括 HNF1、HNF3、HNF4、HNF6 等, HNF4 包括 HNF4 α 、HNF4 β 、HNF4 γ (即 HNF4G) 3 种类型, 其中, HNF4 α 和 HNF4 γ 具有 70% 的同源性。研究表明 FXR、HNF1 α 、HNF4 α 等肝脏中富集的转录因子均参与 ApoA 基因转录的调控^[5-7]。此外, 大量的研究已阐明胆汁酸、烟碱、雌激素、成纤维细胞生长因子 19 等可以通过影响 ApoA 基因的表达从而下调血浆中脂蛋白 (a) 的水平, 其机制主要是通过调控 ApoA 基因的转录来实现^[8-10]。

微小 RNA 作为一种内源性的对基因表达的调控工具已被公认, 本研究首次把它运用到 LPA 的表达调控, 结果表明 LPA 基因受到 miR-23b-3p 的有效调控, 但 miR-23b-3p 并不是直接作用于 LPA 基因本身, 而是间接作用于调控 LPA 基因表达的转录因子 HNF4, HNF4 可与 LPA 基因启动子上的 DR-1 位点结合, 并促进 ApoA 转录, 这种作用可被激活的 FXR 所抵消^[5]。最近研究发现, 当胆酸激活 FXR

时, FXR 下游的靶基因 SHR 可被激活, 其可以与 HNF4 启动子区域相应的结合位点相结合从而抑制 HNF4 表达^[11]。这意味着 FXR 激活可以通过 SHR 间接抑制 HNF4, 从而抑制 HNF4 对 ApoA 表达的促进作用。在 FXR 的启动子区域也存在 HNF4 的结合位点, HNF4 也可以通过与这位点结合抑制 FXR 表达。FXR 可从 3 个方面与 HNF4 对抗, 其一是与 HNF4 竞争 LPA 启动子的 DR-1 位点, 其二是通过 FXR 下游靶基因 SHR 抑制 HNF4, 其三则是本研究所发现的, FXR 可以激活 MAPK, 活化的 MAPK 可结合于 9 号染色体 miR-23b-3p 基因的启动子上游, 促进 miR-23b-3p 表达, 作用于其靶基因 HNF4 γ , 抑制其蛋白表达, 从而减少了 HNF4 γ 的量; 通过以上 3 条途径产生明显的抑制 ApoA 效用。胆酸通过 FXR/MAPK/miR-23b-3p/HNF4 γ 下调 ApoA 表达, 这一发现丰富了胆酸下调 ApoA 表达的分子机制。

[参考文献]

- [1] Langer C, Tambyrayah B, Thedieck S, et al. Testing for lipoprotein(a) concentration and apolipoprotein(a) phenotypes: Method standardization and pediatric reference values[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2011, 37(7): 810-813.
- [2] Merki E, Graham MJ, Mullick AE, et al. Antisense oligonucleotide directed to human apolipoprotein B-100 reduces lipoprotein(a) levels and oxidized phospholipids on human apolipoprotein B-100 particles in lipoprotein(a) transgenic mice[J]. *Circulation*, 2008, 118(7): 743-753.
- [3] Koornneef A, Maczuga P, van Logtenstein R, et al. Apolipoprotein B knock-down by AAV-delivered shRNA lowers plasma cholesterol in mice[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(4): 731-740.
- [4] Zabaneh D, Kumari M, Sandhu M, et al. Meta analysis of candidate gene variants outside the LPA locus with Lp(a) plasma levels in 14500 participants of six White European cohorts[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 217(2): 447-451.
- [5] Chennamsetty I, Claudel T, Kostner KM, et al. Farnesoid X receptor represses hepatic human APOA gene expression[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9): 3724-734.
- [6] Puckey LH, Knight BL. Sequence and functional changes in a putative enhancer region upstream of the apolipoprotein(a) gene[J]. *Atherosclerosis*, 2003, 166(1): 119-127.
- [7] Hixson JE, Jett C, Birnbaum S. Identification of promoter sequences in the 5' untranslated region of the baboon apolipoprotein(a) gene[J]. *J Lipid Res*, 1996, 37(11): 3234-331.
- [8] Chennamsetty I, Claudel T, Kostner KM, et al. FGF19 signaling cascade suppresses APOA gene expression[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(5): 1220-227.
- [9] Chennamsetty I, Kostner KM, Claudel T, et al. Nicotinic acid inhibits hepatic APOA gene expression: studies in humans and in transgenic mice[J]. *J Lipid Res*, 2012, 53(11): 2405-412.
- [10] Puckey LH, Knight BL. Interaction of oestrogen and peroxisome proliferator-activated receptors with apolipoprotein(a) gene enhancers[J]. *Biochem J*, 2002, 366(Pt 1): 157-163.
- [11] Gonzalez FJ. Regulation of hepatocyte nuclear factor 4 alpha-mediated transcription[J]. *Drug Metab Pharmacokin*, 2008, 23(1): 2-7.

(此文编辑 曾学清)