

苦瓜蛋白通过 FXR/miR-23b-3p/HNF4 α 途径抑制载脂蛋白(a)表达

马小峰¹, 刘益洲¹, 童海², 姜森³, 王佐³

(1.南华大学附属南华医院,2.南华大学附属第一医院,3.南华大学心血管疾病研究所,湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 载脂蛋白(a); 法尼酯 X 受体; 肝细胞核因子 4 α ; 苦瓜蛋白; miR-23b-3p

[摘要] 目的 研究苦瓜蛋白(MD28)对 HepG2 细胞载脂蛋白(a) [Apo(a)] 表达的影响,探索其作用机制。方法 离心、超滤、透析、阳离子交换色谱、反相高效液相色谱等方法提取苦瓜蛋白;MTT 法检测苦瓜蛋白处理 HepG2 细胞后细胞存活率;实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)和 Western blot 分别检测 Apo(a)、法尼酯 X 受体(FXR)、肝细胞核因子 4 α (HNF4 α)的 mRNA 和蛋白表达水平;qRT-PCR 检测 hsa-miR-23b-3p 的表达水平,采用小干扰 RNA 转染沉默 FXR。结果 与对照组相比,0.1、0.2、0.4、0.8 及 1.6 g/L 苦瓜蛋白处理 HepG2 细胞 24 h,细胞存活率无统计学差异;与对照组相比,苦瓜蛋白呈剂量和时间依赖性抑制 Apo(a)表达,以 1.6 g/L 苦瓜蛋白作用 48 h 的效果最为显著;苦瓜蛋白上调 FXR 和 hsa-miR-23b-3p 表达水平,下调 HNF4 α 表达水平,沉默 FXR 则逆转苦瓜蛋白的上述作用,沉默 hsa-miR-23b-3p 能逆转苦瓜蛋白对 HNF4 α 的下调作用,但对 FXR 的表达无影响。结论 苦瓜蛋白通过 FXR/miR-23b-3p/HNF4 α 途径抑制 HepG2 细胞 Apo(a)的表达,有望成为临床降低脂蛋白(a)的候选药物。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Momordicin 28 inhibits expression of apolipoprotein (a) by FXR/miR-23b-3p/HNF4 α pathway

MA Xiao-Feng¹, LIU Yi-Zhou¹, TONG Hai², JIANG Miao³, WANG Zuo³

(1.Affiliated Nanhua Hospital, 2.the First Affiliated Hospital, 3.Institute of Cardiovascular Disease Research, University of South China, Hengyang 421001, Hunan, China)

[KEY WORDS] Apolipoprotein (a); Farnesyl ester X receptor; Hepatocyte nuclear factor 4 α ; Momordicin 28; MiR-23b-3p

[ABSTRACT] **Aim** To study the effect of momordicin 28 (MD28) on the expression of apolipoprotein(a) in HepG2 cells and explore its mechanism. **Methods** The cell viability of HepG2 cells treated with MD28 was determined by MTT assay. MD28 was purified by centrifugation, ultrafiltration, dialysis, cation exchange chromatography and reversed-phase high performance liquid chromatography. The mRNA and protein expression levels of apolipoprotein(a), farnesyl ester X receptor (FXR) and hepatocyte nuclear factor 4 α (HNF4 α) were detected by qRT-PCR and Western blot respectively, qRT-PCR was used to detect the expression level of hsa-miR-23b-3p, and small interfering RNA transfection was used to silence FXR. **Results** Compared with the control group, the cell viability of HepG2 cells treated with MD28 at 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 and 1.6 g/L had no significant difference. Compared with the control group, MD28 inhibited apolipoprotein(a) expression in a dose and time dependent manner, the best inhibitory effect was 1.6 g/L MD28 on 48 h. FXR and hsa-miR-23b-3p expression levels were up-regulated by MD28 while HNF4 α was down-regulated in HepG2 cells, and silencing FXR reversed above-mentioned effect of MD28, silencing hsa-miR-23b-3p could also reverse the down-regulation effect of MD28 on HNF4 α , but had no effect on FXR expression. **Conclusion** MD28 inhibits the expression of Apo(a) in HepG2 cells through the FXR/miR-23b-3p/HNF4 α pathway, and is expected to be a candidate for the clinical reduction of lipoprotein(a).

[收稿日期] 2017-09-20

[修回日期] 2017-10-30

[基金项目] 湖南省教育厅项目(15C1201);湖南省卫生计生委课题(B2016139)

[作者简介] 马小峰,硕士,副教授,硕士研究生导师,主要从事心血管相关疾病研究,E-mail 为 13786437543@139.com。通讯作者童海,硕士,副教授,研究方向为动脉粥样硬化,E-mail 为 21363721@qq.com。

脂蛋白(a)由载脂蛋白(a) [apolipoprotein(a), Apo(a)]和载脂蛋白 B100 通过一对二硫键连接而成,其血浆浓度变化很大,从0 mg/L到 1000 mg/L 不等,当其浓度大于 300 mg/L 时,对心血管系统的危害性急剧增大,因此,高脂蛋白(a)被认为是动脉粥样硬化的独立危险因素^[1]。过去一直认为脂蛋白(a)的血浆浓度主要受其基因 APOA 的遗传控制,而受食物和药物的影响很小,但 Chennamsetty 等^[2]在胆道堵塞的患者中发现其脂蛋白(a)的血浆水平非常低,这是因为胆酸可激活法尼酯 X 受体(farnesyl ester X receptor, FXR),竞争性地抑制肝细胞核因子 4 α (hepatocyte nuclear factor 4 α , HNF4 α)与 APOA 基因启动子区域 DR-1 位点结合,从而起到抑制 APOA 基因表达,降低脂蛋白(a)血浆水平的作用。因此 FXR 成为调控 APOA 基因表达的重要靶点,可针对该靶点筛选降脂蛋白(a)血浆水平的效用物。我们前期研究发现硫化氢可通过 FXR/HNF4 α 途径抑制 HepG2 细胞 Apo(a)的表达^[3],苦瓜蛋白(momordicin28, MD28)能上调 ABCA1 的表达^[4-5],而 ABCA1 的表达与 FXR 有关,故苦瓜蛋白具有调控 FXR 表达的可能性,即苦瓜蛋白存在通过上调 FXR 表达而抑制 Apo(a)表达的可能性,此外,还发现胆酸可上调 FXR,而 miR-23b-3p 寄生基因的启动子有多个 FXR 的结合位点,因此胆酸可通过 FXR/miR-23b-3p 抑制 APOA 基因表达^[6-7]。基于此,本研究拟在 HepG2 高表达 Apo(a)的细胞株上证实苦瓜蛋白具有抑制 APOA 基因表达的作用,且其通过 FXR/miR-23b-3p/HNF4 α 途径实现。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

50K 截流分子筛(美国 Millipore 公司);MTT 试剂盒(南京凯基公司); β -actin 兔抗人一抗、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗、ECL 化学发光试剂盒(武汉博士德公司);Apo(a)兔抗人一抗和羊抗兔二抗(台湾 Abnova 公司);FXR 兔抗人一抗和羊抗兔二抗(Santa Cruz 公司);HNF4 α 兔抗人一抗和羊抗兔二抗(Hyclone-Pierce 公司);Trizol、逆转录试剂盒、real-time PCR 试剂盒(日本 TAKARA 公司);Qiazol(Qiagen 公司)、TaqMans microRNA Reverse Transcription Kit 和 TaqMans Universal PCR Master Mix system(美国 Applied Biosystems by Life Technologies);苦瓜蛋白参考文献^[8]自制,其余均为国产分

析纯。倒置生物显微镜(日本 Olympus 公司);CO₂ 培养箱(美国 Sheldon 公司);垂直电泳仪和转膜系统(美国 Biorad 公司);微量移液器、PCR 仪(德国 Eppendorf 公司);凝胶成像分析系统(美国 UVP 公司 GOS7500 型);超低温冰箱(日本三洋公司)。

1.2 细胞培养

白种人肝癌细胞株 HepG2 细胞用含 DMEM 高糖培养基进行培养,其中 DMEM 高糖培养基含 10% 胎牛血清和 100 kU/L 青-链霉素,加入培养基后置于恒温 37℃、含有 5%CO₂ 的培养箱内培养,细胞贴壁后每隔 24 h 更换一次培养基,待细胞进入对数期后进行后续分组实验。

1.3 MTT 检测细胞存活率

按照 MTT 试剂盒说明书使用方法,收集对数期 HepG2 细胞,经胰蛋白酶消化后调整细胞悬液浓度,每孔加入 100 μ L 接种于 96 孔板,铺板使待测细胞密度至 1000 个/孔(边缘孔用无菌 PBS 填充),每板设 5 个复孔,5%CO₂、37℃ 孵育,至细胞单层铺满孔底,分别加入浓度为 0、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 g/L 苦瓜蛋白,5%CO₂、37℃ 孵育 24 h,每孔加入 20 μ L MTT 溶液(5 g/L),继续培养 4 h,小心吸尽培养基,每孔加入 DMSO 150 μ L,置于脱色摇床上振荡 10 min,酶标仪于 570 nm 波长测定各孔吸光度值。

1.4 Western blot 检测

按常规步骤提取蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,按 SDS-PAGE 凝胶试剂盒说明配置 8% 的分离胶和 5% 浓缩胶,每孔上样 10 μ L,先恒压 80 mV 电泳 30 min,再切换至 120 mV 电泳约 90 min,待蛋白样本达到分离胶的底部时,停止电泳。PVDF 剪切覆盖后恒定电流 200 mA 转膜 2 h,取出 PVDF 膜,浸泡于脱脂牛奶中,4℃ 封闭过夜,封闭孵育相应一抗,4℃ 冰箱内过夜,孵育相应二抗 2 h,洗膜后用 Tanon 化学发光成像系统显影。

1.5 qRT-PCR 检测

1.5.1 Apo(a)、FXR 和 HNF4 α mRNA 检测 取冻存的已裂解细胞室温完全融化,采用 Trizol 法提取细胞总 RNA,紫外分光光度计测定 A₂₆₀/A₂₈₀ 的吸光值,使比值在 1.8~2.0 之间。按照逆转录试剂盒步骤将总 RNA 逆转录合成 cDNA,制备的 cDNA 即用或-80℃ 保存备用。PCR 扩增引物序列:Apo(a)的 sense 序列为 5'-CTA CCA CGG AAA TGG ACA GAG T-3',antisense 序列为 5'-GTA ACA CCA AGG GCG AAT CTC-3';FXR 的 sense 序列为 5'-CCG ACT TAT CCT AAT GCG AAA T-3',antisense 序列为 5'-CGA TGT CTT CTA CCT CCC TCT AA-3';HNF4 α 的

sense 序列 5'-AAA TGT GCA GGT GTT GAC CA-3', antisense 序列为 5'-CAC GCT CCT CCT GAA GAA TC-3'; β -actin 的 sense 序列为 5'-AGC GAG CAT CCC CAA AGT T-3', antisense 序列为 5'-GGG CAC GAA GGC TCA TCA TT-3'; 反应条件: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 30 s, 57.7℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共 35 个循环, 72℃ 延伸 5 min; 35 个循环后进行熔解曲线的检测。以 GAPDH 作为内参基因, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 mRNA 的相对表达水平。

1.5.2 miR-23b-3p 检测 总 RNA 的提取参照说明书。将冰冻细胞溶解在 700 mL 的 Qiazol 试剂中, 用 miRNeasy 试剂盒提取总的小分子 RNA, 储存于 -80℃。miR 反转录使用 TaqMans microRNA Reverse Transcription Kit, PCR 反应使用 TaqMans Universal PCR Master Mix system。50 ng 小分子 RNA 转换为互补的 cDNA, 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 小干扰 RNA 转染

选用生理状态良好的细胞进行转染。转染前一天, 将细胞密度为 $(4\sim5)\times 10^4$ 细胞接种在 24 孔板上, 用 0.5 mL 含胎牛血清和抗生素的 DMEM 细胞培养基培养, 使细胞在 24 h 内汇合达到 70%~90%。在 50 μ L 的 DMEM 无血清培养基中加入 20 pmol FXR siRNA (引物序列^[9]: sense 为 5'-GUG GUA CUC UCC UGO AAU ATT-3', antisense 为 5'-UAU UCC AGG AGA GUA CCA CTT-3'), 柔和混匀。混匀 lipofectamin2000 试剂, 用 50 μ L 无血清的 DMEM 稀释 1 μ L lipofectamin2000 试剂, 轻轻混匀, 室温放置 5 min。将稀释好的 siRNA 和 Lipofectamin2000 试剂混合, 轻柔混匀, 室温放置 20 min, 以便形成 siRNA/lipofectamin2000 复合物。将 100 μ L siRNA/lipofectamin2000 复合物加到含有细胞和培养基的培养板孔中, 来回轻柔摇晃细胞培养板。细胞在 CO₂ 培养箱中于 37℃ 温育 24~48 h, 进行转染后的其它检测步骤。

1.7 统计学分析

采用 GraphPad Prism 5.1 和 SPSS 13.0 统计软件分析所有实验结果, 并以 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 苦瓜蛋白对 HepG2 细胞存活率的影响

以不同浓度 (0、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 及 3.2 g/L)

的苦瓜蛋白处理 HepG2 细胞 24 h, 与对照组比较, 0.1、0.2、0.4、0.8 及 1.6 g/L 苦瓜蛋白处理 HepG2 细胞 24 h 后细胞存活率差异不显著, 但 3.2 g/L 苦瓜蛋白显著降低 HepG2 细胞存活率 ($P<0.05$; 图 1)。因此, 后续实验选择苦瓜蛋白浓度在 1.6 g/L 以内。

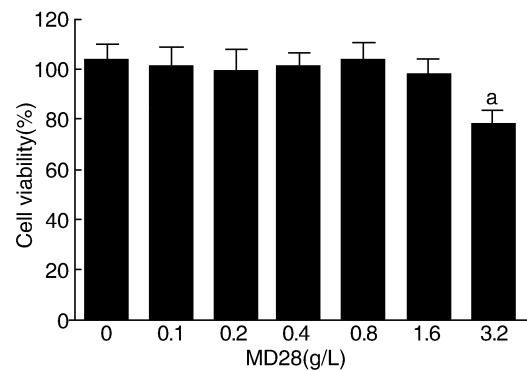


图 1. 不同浓度苦瓜蛋白对 HepG2 细胞存活率的影响 ($n=3$) a 为 $P<0.05$, 与对照组 (0 g/L 苦瓜蛋白处理组) 比较。

Figure 1. Effect of different concentrations of MD28 on HepG2 cell viability ($n=3$)

2.2 苦瓜蛋白呈剂量和时间依赖性抑制 HepG2 细胞 Apo(a) 表达

用不同浓度的苦瓜蛋白 (0、0.1、0.2、0.4、0.8 及 1.6 g/L) 处理 HepG2 细胞 24 h, 以 0.8 g/L 苦瓜蛋白处理 HepG2 细胞 0 h、6 h、12 h、24 h 及 48 h。与对照组相比, HepG2 细胞 Apo(a) 蛋白和 mRNA 表达水平随苦瓜蛋白处理浓度、处理时间呈逐渐下降趋势, 苦瓜蛋白浓度在 0.2 g/L 时表现出对 Apo(a) 蛋白表达的显著抑制作用, 但在 0.4 g/L 时才表现出对 Apo(a) mRNA 表达水平的显著抑制作用, 苦瓜蛋白对 Apo(a) 蛋白和 mRNA 表达的最大抑制作用均出现在 1.6 g/L 时。苦瓜蛋白对 Apo(a) 蛋白和 mRNA 表达抑制作用的时间效用一致, 24 h 表现出显著差异, 最大抑制作用在 48 h (图 2)。

2.3 苦瓜蛋白上调 HepG2 细胞 FXR 和 miR-23b-3p 的表达

用不同浓度的苦瓜蛋白 (0、0.1、0.2、0.4、0.8 及 1.6 g/L) 处理 HepG2 细胞 24 h, 与对照组相比, HepG2 细胞 FXR 蛋白和 mRNA 表达水平随苦瓜蛋白浓度升高呈逐渐上升趋势, FXR 蛋白在苦瓜蛋白为 0.1 g/L 时、FXR mRNA 在苦瓜蛋白为 0.2 g/L 时出现显著升高, 当浓度到达 1.6 g/L 时, FXR 蛋白和 mRNA 均达到最高表达水平。使用 0.8 g/L 苦瓜蛋白处理 HepG2 细胞 24 h, miR-23b-3p 的表达水平提

高约7倍,表明0.8 g/L 苦瓜蛋白显著促进 miR-23b-3p 的表达(图3)。

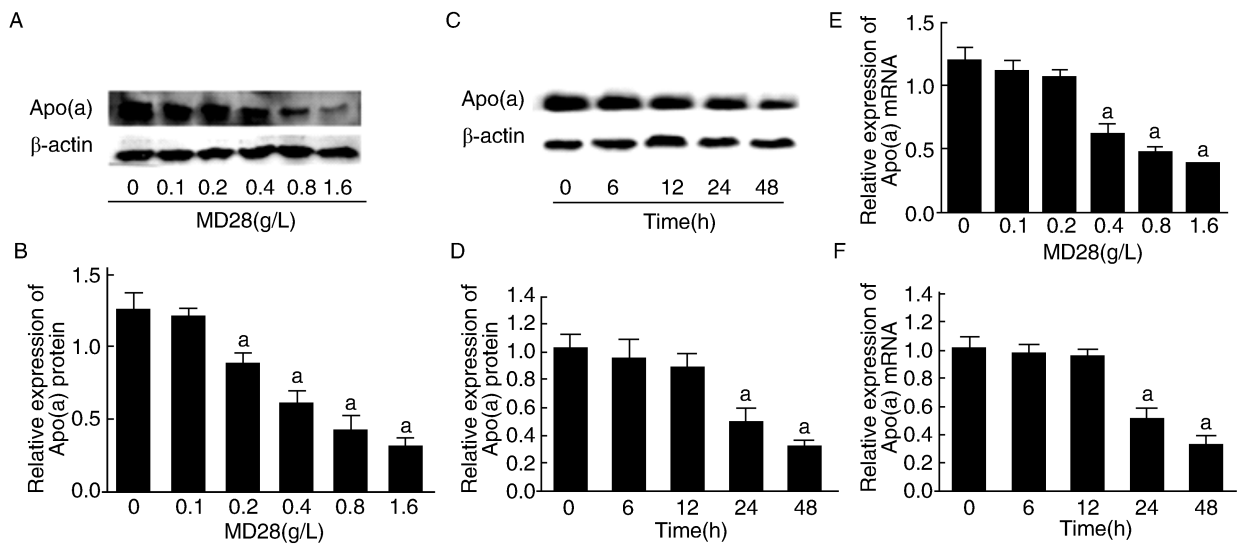


图2. 苦瓜蛋白不同浓度和作用不同时间对 HepG2 细胞 Apo(a) 表达的影响 ($n=3$) A 和 B 分别为不同剂量苦瓜蛋白抑制 Apo(a) 蛋白表达的电泳图和统计图, C 和 D 分别为苦瓜蛋白作用不同时间抑制 Apo(a) 蛋白表达的电泳图和统计图, E 为不同剂量苦瓜蛋白抑制 Apo(a) mRNA 表达的分析图, F 为苦瓜蛋白作用不同时间抑制 Apo(a) mRNA 表达的分析图。a 为 $P<0.05$, 与对照组 (0 g/L 苦瓜蛋白处理组或 0.8 g/L 苦瓜蛋白处理 0 h 组) 比较。

Figure 2. Effect of MD28 on Apo(a) expression at different concentrations and different times in HepG2 cell ($n=3$)

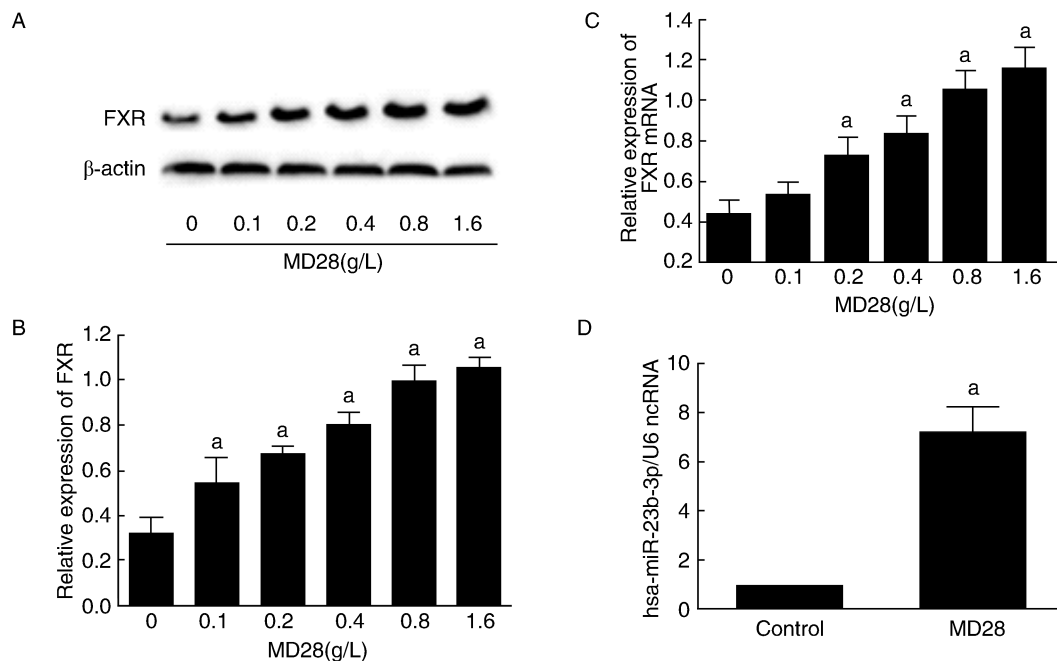


图3. 苦瓜蛋白上调 HepG2 细胞 FXR 和 miR-23b-3p 的表达 ($n=3$) A 和 B 分别为苦瓜蛋白促进 FXR 蛋白表达的电泳图和统计图, C 为苦瓜蛋白促进 FXR mRNA 表达的分析图, D 为苦瓜蛋白促进 miR-23b-3p 表达的分析图。a 为 $P<0.05$, 与对照组比较。

Figure 3. MD28 up-regulates the expression of FXR and miR-23b-3p in HepG2 cell ($n=3$)

2.4 苦瓜蛋白抑制 HepG2 细胞 HNF4 α 的表达

用不同浓度的苦瓜蛋白 (0、0.1、0.2、0.4、0.8 及 1.6 g/L) 处理 HepG2 细胞 24 h, 与对照组相比, HepG2 细胞 HNF4 α 蛋白和 mRNA 表达水平随苦瓜

蛋白浓度的增高及处理时间的延长呈逐渐下降趋势, 自 0.4 g/L 苦瓜蛋白开始出现显著性差异, 1.6 g/L 苦瓜蛋白对 HNF4 α 蛋白和 mRNA 表达水平的抑制作用最强 (图4)。

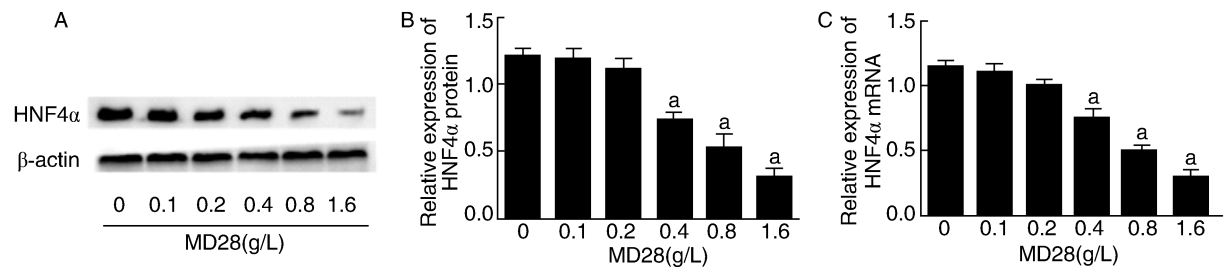


图 4. 苦瓜蛋白抑制 HepG2 细胞 HNF4 α 的表达 ($n=3$) A 和 B 分别为苦瓜蛋白抑制 HNF4 α 蛋白表达的电泳图和统计图,C 为苦瓜蛋白抑制 HNF4 α mRNA 表达的分析图。a 为 $P<0.05$,与对照组比较。
Figure 4. MD28 inhibits the expression of HNF4 α in HepG2 cell ($n=3$)

2.5 沉默 FXR 和 miR-23b-3p 逆转苦瓜蛋白对 Apo(a) 和 HNF4 α 表达的抑制作用

沉默 FXR 后,苦瓜蛋白对 Apo(a) 和 HNF4 α 表达的抑制作用得到了部分的逆转,miR-23b-3p 的表达水平也下降;使用 anti-miR-23b-3p 沉默 miR-23b-3p 后,苦瓜蛋白对 Apo(a) 和 HNF4 α 表达的抑制作用

用同样得到了部分的逆转,但 FXR 的表达水平并未发生显著改变。结果证实苦瓜蛋白通过 FXR/miR-23b-3p/HNF4 α 途径抑制 Apo(a) 的表达。但沉默 FXR 和 miR-23b-3p 后只能部分逆转苦瓜蛋白的效用,因此,苦瓜蛋白对 Apo(a) 表达的抑制作用可能还存在其它作用分子途径(图 5 和 6)。

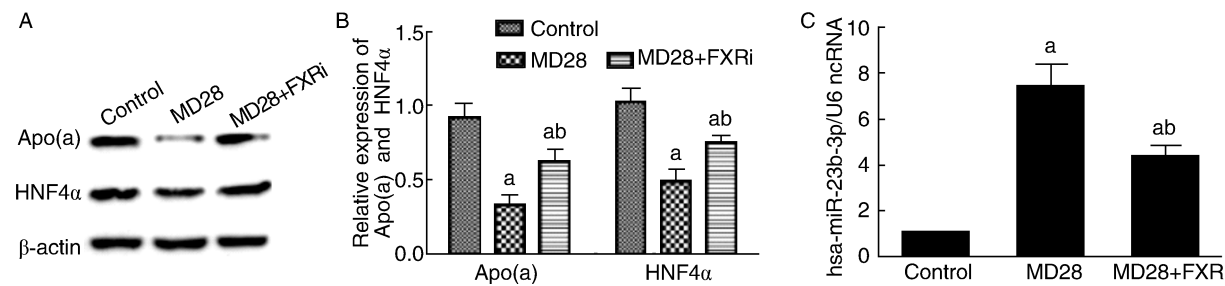


图 5. 沉默 FXR 逆转苦瓜蛋白对 HepG2 细胞 Apo(a) 和 HNF4 α 表达的抑制作用 ($n=3$) A 和 B 分别为沉默 FXR 对 HepG2 细胞 Apo(a) 和 HNF4 α 表达影响的电泳图和统计分析图,C 为沉默 FXR 对 HepG2 细胞 miR-23b-3p 表达的影响。a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与苦瓜蛋白组比较。
Figure 5. Silencing FXR reverses the inhibitory effect of MD28 on Apo(a) and HNF4 α expression in HepG2 cell ($n=3$)

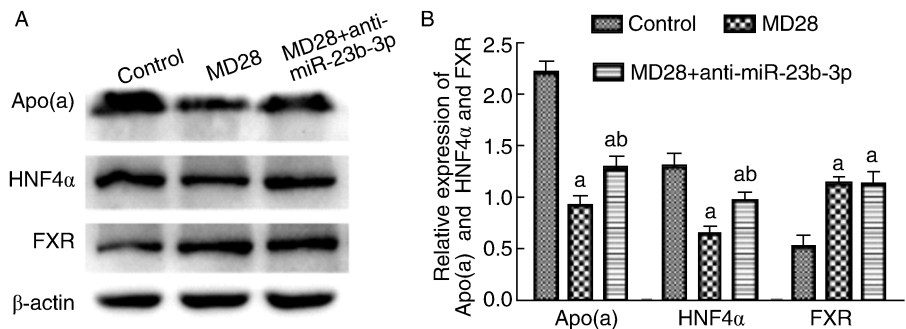


图 6. 沉默 miR-23b-3p 逆转苦瓜蛋白对 HepG2 细胞 Apo(a) 和 HNF4 α 表达的抑制作用 ($n=3$) A 和 B 分别为沉默 miR-23b-3p 对 HepG2 细胞 Apo(a) 和 HNF4 α 表达影响的电泳图和统计分析图。a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与苦瓜蛋白组比较。
Figure 6. Silencing miR-23b-3p reverses the inhibitory effect of MD28 on Apo(a) and HNF4 α expression in HepG2 cell ($n=3$)

3 讨论

由于高脂蛋白(a)是动脉粥样硬化的独立危险因素,因此降低脂蛋白(a)的血浆水平成为该领域的

热点,但脂蛋白(a)水平主要受 APOA 基因控制,药物和食物对其作用不大,目前尚无理想的降低脂蛋白(a)浓度的药物。Merki 等^[10]在脂蛋白(a)转基因小鼠的腹腔注射一种与人类 ApoB100 mRNA 互补反义

寡核苷酸,发现该反义寡核苷酸降低脂蛋白(a)水平达到75%,而对Apo(a)的mRNA和蛋白水平没有影响。考虑到大幅度降低ApoB100不可避免地带来副作用^[11-12],Merki等^[13]又设计了针对APOA基因的反义寡核苷酸14367(ASO14367),结果发现ASO14367可显著降低转基因小鼠肝脏中Apo(a)的mRNA表达和血浆Apo(a)/脂蛋白(a)水平,而且对小鼠肝脏和肾脏等没有明显毒副作用。这一结果激起了研究人员对转录水平调控APOA基因表达的信心和研究热情。研究发现,胆酸、雌激素、FGF19、FGF21、胰岛素样生长因子I、烟酸均可从转录水平调控APOA基因表达^[14-19]。最近发现,维生素C可通过TET2介导的ELK1启动子去甲基化抑制Apo(a)的表达^[20]。

既然反义核苷酸可以抑制Apo(a)的表达,而微小RNA(microRNA, miR)对基因表达的调控原理与反义核苷酸接近,其通过结合到靶基因的3'-UTR、5'-UTR或蛋白编码区来促进或抑制靶基因的表达,但其调控能力远大于反义核苷酸,因此miR是否参与APOA基因的表达调控是一个十分吸引人的问题。由于绝大部分转录因子受到miR的调控,而APOA基因又受众多转录因子的调控,因此极有可能从肝细胞中找到针对调控APOA基因的转录因子的内源性miR。研究发现,miR-626可靶向Apo(a) mRNA 3'-UTR从转录后水平直接调控APOA基因的表达^[21],miR-23b-3p可靶向HNF4 α 抑制HNF4 α 的表达水平^[7],胆酸通过上调FXR作用于miR-23b-3p的寄生基因上的启动子序列,从而上调miR-23b-3p的表达,抑制HNF4 α 的表达水平,从而下调APOA基因的表达,降低胞外脂蛋白(a)的分泌水平^[6],因此FXR和HNF4 α 及miR-23b-3p可望成为调控APOA基因表达的重要干预靶点。本研究正是基于这样一种出发点,进行了验证性的实验,结果证实苦瓜蛋白能上调FXR,通过FXR促进miR-23b-3p的表达,由miR-23b-3p与HNF4 α 3'-UTR结合,从而抑制HNF4 α 的表达,从而减少HNF4 α 与APOA基因启动子DR-1位点的结合,抑制Apo(a)的表达。苦瓜果肉中的有效成分苦瓜蛋白通过FXR/miR-23b-3p/HNF4 α 途径抑制Apo(a)的表达,基于以上研究,苦瓜蛋白有望成为临床降低脂蛋白(a)的候选药物。

[参考文献]

[1] Nguyen TT, Ellefson RD, Hodge DO, et al. Predictive value of electrophoretically detected lipoprotein (a) for coronary heart disease and cerebrovascular disease in a community based cohort of

- 9936 men and women[J]. *Circulation*, 1997, 96(5): 1 390-397.
- [2] Chennamsetty I, Claudel T, Kostner K M, et al. Farnesoid X receptor represses hepatic human APOA gene expression[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9): 3 724-734.
- [3] Qu K, Liu YM, He XL, et al. H₂S inhibits apo(a) expression and secretion through PKC α /FXR and Akt/HNF4 α pathways in HepG2 cells[J]. *Cell Biol Int*, 2016, 40(8): 906-916.
- [4] 田永凤, 杜阳萨, 王佐, 等. 苦瓜蛋白抑制 THP-1 源性巨噬细胞泡沫化与下调 ACAT1 的表达有关[J]. *湘南学院学报(医学版)*, 2016, 18(2): 1-5.
- [5] 王佐, 唐朝克, 吕运成, 等. 苦瓜蛋白对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞形成及三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, 12(1): 27-30.
- [6] 田永凤, 莫学靓, 雷建军, 等. 胆酸通过上调 miR-23b-3p 抑制载脂蛋白 A 表达[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(8): 769-773.
- [7] 童海, 雷建军, 莫学靓, 等. miR-23b-3p 对肝核因子 4 的靶基因及效用分析[J]. *湘南学院学报(医学版)*, 2015, 17(1): 1-4.
- [8] 王佐, 李双杰, 杨永宗, 等. 苦瓜蛋白的分离纯化及其体外抗 CoXB3 型病毒作用的研究[J]. *南华大学学报*, 2002, 30(1): 1-3.
- [9] 郭飞. GATA6 上调 LOXL2 促进胆管癌侵袭转移和 FXR 上调 SOCS3 抑制肝细胞癌增殖的研究[D]. 2015. 第三军医大学, 重庆.
- [10] 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.
- [11] Peterson MM, Mack JL, Hall PR, et al. Apolipoprotein B is an innate barrier against invasive staphylococcus aureus infection[J]. *Cell Host Microbe*, 2008, 4(6): 555-566.
- [12] Wang YT, von Zychlinski A, McCormick SP. Dimyristoylphosphatidylcholine induces conformational changes in apoB that lowers lipoprotein(a)[J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(5): 846-853.
- [13] Merki E, Graham M, Taleb A, et al. Antisense oligonucleotide lowers plasma levels of apolipoprotein(a) and lipoprotein(a) in transgenic mice[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(15): 1 611-621.
- [14] Lawrie LC, Dundas SR, Curran S, et al. Liver fatty acid binding protein expression in colorectal neoplasia[J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(10): 1 955-960.
- [15] Chennamsetty I, Claudel T, Kostner KM, et al. Farnesoid X receptor represses hepatic human APOA gene expression[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9): 3 724-734.
- [16] Chennamsetty I, Claudel T, Kostner KM, et al. FGF19 signaling cascade suppresses APOA gene expression[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(5): 1 220-227.
- [17] Lin X, Li G, He X, et al. FGF21 inhibits apolipoprotein(a) expression in HepG2 cells via the FGFR1-ERK1/2-Elk-1 pathway[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 393(1-2): 33-42.
- [18] Laron Z, Wang X L, Klinger B. Growth hormone increases and insulin-like growth factor-I decreases circulating lipoprotein (a)[J]. *Eur J Endocrinol*, 1997, 136(4): 377.
- [19] Creider JC, Hegele RA, Joy TR. Niacin: another look at an underutilized lipid-lowering medication[j]. *Nat Rev Endocrinol*, 2012, 8(9): 517-528.
- [20] Qu K, Ma XF, Li GH, et al. Vitamin C down-regulate apo(a) expression via Tet2-dependent DNA demethylation in HepG2 cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 98: 637-645.
- [21] 孟军, 杨简, 何谨, 等. miR-626 下调 HepG2 细胞载脂蛋白(a)的表达[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(7): 661-665.

(此文编辑 文玉珊)