胆固醇酯对非酒精性脂肪肝药物治疗的影响

朱豆豆[1]， 朱升龙[1]， 崔思远[2]， 陆旭阳[1]， 陈永泉[*1]
（1.江南大学 无锡医学院，江苏 无锡 214122；2. 无锡市第二人民医院，江苏 无锡 214122）

摘要： 胆固醇酯(cholesteryl ester，CE)是胆固醇过量时的储存产物。研究表明CE在多种代谢类疾病的诊疗中都扮演着重要角色，然而膳食摄入CE对非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)药物治疗的影响仍不清晰。作者以非诺贝特(fenofibrate, Feno)治疗的NAFLD小鼠为模型，通过膳食补充CE研究其对非诺贝特治疗效果的影响。结果表明，非诺贝特可有效缓解NAFLD的症状，而膳食补充CE后削弱了非诺贝特对NAFLD的治疗效果。此外，转录组学以及RT-QPCR分析表明，膳食补充CE可逆转非诺贝特调控的脂肪酸代谢以及胆固醇酯化相关基因 *Soat1* 和 *Soat2* mRNA的表达。以上结果表明，膳食添加CE可显著影响NAFLD的药物治疗效果，推测当饮食中CE质量分数较高时，非诺贝特的治疗效果将被降低。该研究为非酒精性脂肪肝患者接受药物治疗期间的合理膳食提供了理论依据。

关键词： 胆固醇酯；非酒精性脂肪肝；非诺贝特
中图分类号：TS 201.4　**文章编号：**1673-1689(2023)07-0011-07　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2023.07.002

Effect of Cholesteryl Ester on Drug Treatment in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease

ZHU Doudou[1]， *ZHU Shenglong*[1]， *CUI Siyuan*[2]， *LU Xuyang*[1]， *CHEN Yongquan*[*1]
(1.Wuxi School of Medicine, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Wuxi Second People's Hospital, Wuxi 214122, China)

Abstract: Cholesteryl ester (CE) is a storage product of excessive cholesterol. Studies have shown that CE plays an important role in the diagnosis and treatment of various metabolic diseases, but the effect of dietary CE on drug treatment for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is still unclear. Using a NAFLD mouse model treated with fenofibrate (Feno), the effect of dietary CE supplementation on the efficacy of Feno treatment was investigated. Results showed that Feno effectively alleviated NAFLD symptoms, but dietary CE supplementation weakened its therapeutic effect. Furthermore, transcriptomics analysis and RT-QPCR showed that dietary CE could reverse the expression of fatty acid metabolism and cholesterol esterification related genes, i.e., *Soat1* and *Soat2* mRNA, regulated by Feno. These results suggest that dietary CE intake significantly impacts the drug treatment for NAFLD, and it is speculated that the higher intake of CE may reduce the efficacy of Feno treatment. This study provides a theoretical basis for the reasonable diet for patients with

收稿日期： 2021-06-24
基金项目： 国家自然科学基金项目(31771539，82000808)；国家“食品科学与工程”一流学科建设项目(JUFSTR20180101)；无锡市科技医疗与公共卫生技术创新与应用项目(N20202005)；无锡转化医学重大专项项目(2020ZHZD03)。
*** 通信作者：** 陈永泉(1961—)，男，博士，教授，博士研究生导师，主要从事糖脂代谢与慢性疾病防治研究。E-mail：yqchen@jiangnan.edu.cn

NAFLD during drug treatment.
Keywords: cholesteryl ester, non-alcoholic fatty liver disease, fenofibrate

非酒精性脂肪肝(NAFLD)是最常见的肝病之一[1]。研究表明饮食结构与NAFLD的发生与发展以及后期的治疗效果紧密相关[2-4],其中膳食补充胆固醇对肝脏代谢稳态具有至关重要的影响[5],相关流行病学研究表明,膳食摄入胆固醇是导致NAFLD恶化的独立危险因素之一[6-7]。

胆固醇(total cholesterol,TC)可分为游离态胆固醇(free cholesterol,FC)和胆固醇酯(CE),两种形式的胆固醇在机体代谢中保持动态平衡[8]。关于食物中CE的报道多集中在禽蛋、蟹黄[9]以及猪油[10]中,其中每100 g鸡蛋蛋黄中胆固醇酯质量为117~140 mg,且油酸胆固醇酯最多[11]。摄入两种不同形式的胆固醇对NAFLD发展以及肝脏内脂质代谢稳态的影响可能存在质的不同,这可能是由于两者结构[12-13]以及合成吸收的途径不同所导致。在细胞内,CE由胆固醇酰基转移酶(SOAT)酯化而成,而FC则主要由乙酰辅酶A在3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMGCR)和角鲨烯单加氧酶的作用下于内质网膜中合成[8]。FC可由尼曼-匹克C1型类似蛋白1(NPC1L1)直接介导吸收[14],而CE在吸收前需要被胰胆固醇酯酶水解[15]。目前关于NAFLD的研究多侧重于FC[16],关于CE的研究相对较少。近年来多项研究表明CE可影响多种疾病的诊疗,例如阿尔茨海默病和前列腺癌等[17-19],然而CE是否影响NAFLD的治疗,目前尚不清晰。

非诺贝特(fenofibrate,Feno)是临床上广泛用于治疗NAFLD的药物,在一项包括16例经活检证实为NAFLD患者的研究中,使用非诺贝特(200 mg/d)48周可显著改善患者的胰岛素敏感性和血脂水平[20]。因此,作者采用非诺贝特治疗的NAFLD小鼠模型,探究膳食补充CE对NAFLD药物治疗的影响及其潜在机制。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂 苏木精-伊红染液试剂盒、油红染色液:南通雨露生物公司产品;胰岛素:通化东宝药业股份有限公司产品;小鼠谷丙转氨酶与甘油三酯测试试剂盒:南京建成生物公司产品;RNA提取试剂盒、SYBR混合物、HiFi PCR混合物:北京康为世纪生物科技有限公司产品;反转录试剂盒:Takara公司产品;第二链cDNA合成试剂盒:碧云天生物公司产品;凝胶回收试剂盒:南京诺唯赞生物科技股份有限公司产品。

非诺贝特(使用生理盐水配制,振荡器充分涡旋混匀):美国雅培制药有限公司产品;CE:TCI公司产品;高脂饲料(脂肪质量分数60%,美国营养学会AIN-93标准):南通特洛菲饲料科技有限公司产品。60%高脂饲料+1%CE饲料(均为质量分数)由南通特洛菲饲料科技有限公司制备,并经60Co辐照灭菌,所有饲料储存于4 ℃,使用前取出恢复至室温。

1.1.2 主要仪器设备 石蜡包埋机、全自动轮转式切片机、冰冻切片机:德国Leica公司产品;QP2010 Ultra型气相色谱质谱联用仪:日本岛津公司产品;Vanquish Q Exactive Plus型超高效液相色谱、酶标仪:美国Thermo公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物模型建立 动物实验方案及所有程序经江南大学动物伦理委员会批准(批准协议号:JN.No20190330c0700710[36])。从SPF(北京)生物技术有限公司(中国)购买6周龄的雄性C57BL/6J小鼠,适应实验室条件1周。1)高脂或正常饲料喂养小鼠13周以建立NAFLD小鼠模型。将19只小鼠分为正常饮食组(normal diet,ND,n=5)、高脂饮食组(high fat diet,HFD,n=7)以及非诺贝特治疗组(HFD-Feno,100 mg/kg,n=7),药物治疗组小鼠隔天经灌胃给药,HFD组小鼠给予生理盐水作为对照,持续10周。2)使用6周龄的雄性C57BL/6J小鼠,高脂饲料喂养13周以建立NAFLD小鼠模型。将21只小鼠分为高脂饮食组(HFD,n=7)、非诺贝特治疗组(HFD-Feno,100 mg/kg,n=7)以及补充质量分数1%CE的非诺贝特治疗组(HFD-CE-Feno,n=7)。药物治疗组小鼠隔天经灌胃给药,HFD组小鼠给予生理盐水作为对照,持续10周。

1.2.2 组织病理学检查 苏木精-伊红染色参照之前方法[21]。对于油红染色,将储存在-80 ℃冰箱的组织切成8 μm厚的切片,并用质量分数4%甲醛固定30 min。然后使用油红染色试剂盒对切片进行染色。

1.2.3 总胆固醇酯与胆固醇酯种类的测定 气相色谱-质谱法(GC-MS)用于检测 TC、FC 以及 CE 质量分数。样品制备步骤如下:20 mg 肝脏组织于 500 μL 纯水中匀浆,取 100 μL 匀浆液或 25 μL 血清置于 10 mL 塑料离心管。同一样品做 6 个平行样,分为两组(TC 组标记为 A1、A2、A3;FC 组标记为 B1、B2、B3)。A 组样品加入 1 mL 1 mol/L 氢氧化钾-乙醇溶液检测 TC,涡旋 15 s,70 ℃金属浴 1 h。B 组加入 1 mL 乙醇测定 FC,充分涡旋。

两组后续处理如下:分别向上述混合液中添加 1 mL 超纯水、3 mL 正己烷,充分涡旋 15 s,2 000 r/min 离心 10 min,分层。转移上清液到新的塑料离心管中,向原管剩余液体中加入 3 mL 正己烷,重复提取一次,混匀。吸取 1 mL 上清液转移至 1.5 mL EP 管,用氮气吹干。向干燥的 EP 管中添加 50 μL BSTFA 混匀并在 75 ℃金属浴 1 h,进行衍生化。离心,取 40 μL 混合液体至棕色气相瓶,上机或储存在-80 ℃冰箱。

1.2.4 转录组学分析 对于文库的制备,使用 Ultrapure RNA 试剂盒提取总 RNA。此外使用 RT 试剂盒合成具有 1 μg 总 RNA 的 cDNA。使用第二链 cDNA 合成试剂盒合成第二链 cDNA。使用凝胶回收试剂盒纯化文库片段。使用 HiFi PCR 混合物扩增混合物,回收目标产物并进行 PCR。

使用 Qubit® 3.0 中的 Qubit® RNA 分析试剂盒测量文库中的 RNA 浓度以进行初步定量,然后将其稀释至 1 ng/μL。使用 Agilent Bioanalyzer 2100 系统评估插入物的大小,并使用 StepOnePlus™ 实时 PCR 系统(库中有效浓度>10 nmol/L),将合格的插入物进行准确定量。使用 HiSeq PE Cluster Kit v4-cBot-HS(Illumina)在 cBot 群集生成系统上对索引编码的样本进行群集。产生簇后,在 Illumina 平台上对文库进行测序,并产生 150 bp 的配对末端读段。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 使用反转录试剂盒从 1 μg 总 RNA 中合成 cDNA,使用 Ultra SYBR 混合物进行实时荧光定量 PCR(RT-QPCR)。根据 3 个独立实验样品的阈值循环值分析数据。引物见表1。

1.3 统计分析

使用 SPSS 25.0 版进行数据的正态性和方差齐性分析。所有数据均使用 GraphPad Prism 7 进行分析,数据表示为平均值±标准差。两组间比较时,如果数据满足正态性、独立性且方差齐性,则统计检验方法选用独立样本 t 检验;两组以上数据比较采用单因素方差分析,$P<0.05$ 表示差异显著。

表 1 qPCR 引物序列

Table 1 qPCR primer sequence

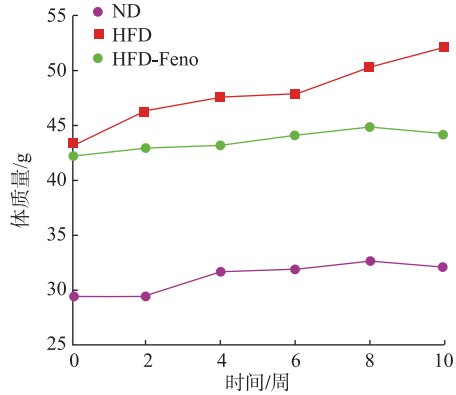
基因	引物序列
Atp5b	F:GGTTCATCCTGCCAGAGACTA R:AATCCCTCATCGAACTGGACG
Cycs	F:CCAAATCTCCACGGTCTGTTC R:ATCAGGGTATCCTCTCCCCAG
Pparα	F:AGAGCCCCATCTGTCCTCTC R:ACTGGTAGTCTGCAAAACCAAA
Cpt1a	F:CTCCGCCTGAGCCATGAAG R:CACCAGTGATGATGCCATTCT
Fasn	F:GGAGGTGGTGATAGCCGGTAT R:TGGGTAATCCATAGAGCCCAG
Dgat2	F:GCGCTACTTCCGAGACTACTT R:GGGCCTTATGCCAGGAAACT
Acc1	F:GATGAACCATCTCCGTTGGC R:GACCCAATTATGAATCGGGAGTG
Soat1	F:GAAACCGGCTGTCAAAATCTGG R:TGTGACCATTTCTGTATGTGTCC
Soat2	F:ACAAGACAGACCTCTTCCCTC R:ATGGTTCGGAAATGTTGCACC
Actb	F:AGATCAAGATCATTGCTCCTCCT R:ACGCAGCTCAGTAACAGTCC

2 结果与分析

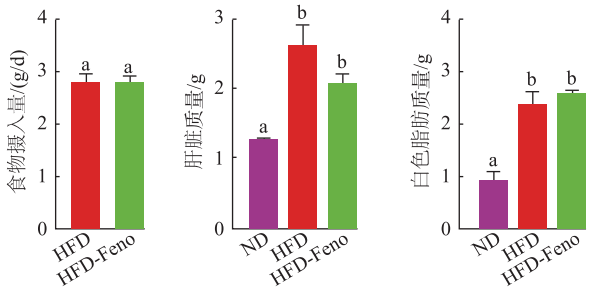
2.1 非诺贝特治疗 NAFLD 的效果分析

高脂饮食饲喂 13 周以建立 NAFLD 小鼠模型,连续 10 周隔天灌胃给药后,观测药物疗效。

与 HFD 组相比,非诺贝特在不影响小鼠肝脏质量和白色脂肪质量的同时显著降低体质量。此外,治疗期间的小鼠进食量无显著差异(见图 1)。



(a)小鼠体质量

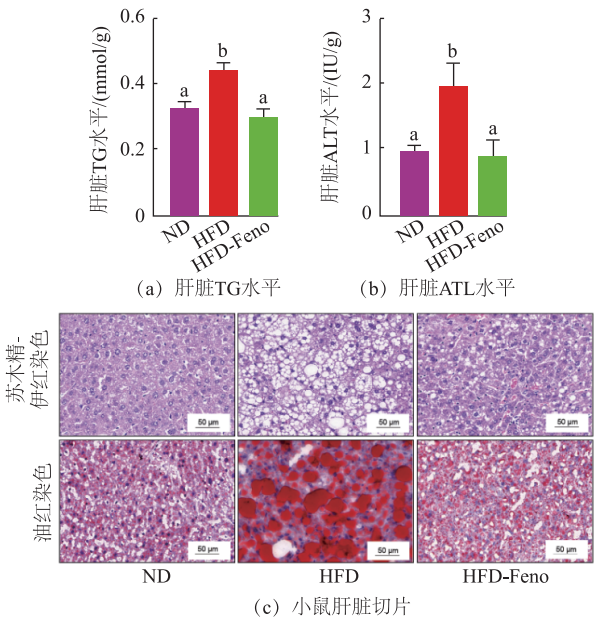


(b) 小鼠食物摄入量　(c) 小鼠肝脏质量　(d) 白色脂肪质量

图 1　非诺贝特对小鼠体质量以及组织质量的影响

Fig. 1　Effect of fenofibrate on the body weight and tissue weight of mice

从图 2(a)、2(b)可知,同 HFD 组小鼠相比,非诺贝特可以显著降低小鼠肝脏内甘油三酯(triglycerides,TG)和谷丙转氨酶(alanine amino-transferase,ALT)水平。图 2(c)是染色后的肝脏石蜡切片与冰冻切片,与 ND 组相比,HFD 组小鼠肝脏存在明显的脂质堆积。同 HFD 组小鼠相比,HFD-Feno 组小鼠肝脏的脂质堆积情况得到显著改善。



(a) 肝脏TG水平　(b) 肝脏ALT水平

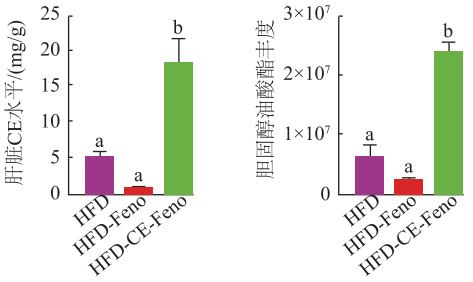
(c) 小鼠肝脏切片

图 2　非诺贝特对小鼠肝脏的影响

Fig. 2　Effect of fenofibrate on the liver of mice

2.2　膳食补充 CE 对小鼠肝脏中 CE 的影响

非诺贝特能够有效缓解 NAFLD 的症状,在膳食补充 CE 后,药物治疗组小鼠肝脏内的胆固醇质量分数发生明显改变。如图 3 所示,相较于 HFD 组,非诺贝特显著降低了小鼠肝脏中的 CE 水平,但膳食添加 CE 抵消了非诺贝特对 NAFLD 小鼠肝脏中 CE 的调控作用。其中,胆固醇油酸酯是小鼠肝脏中 CE 增加的主要形式。



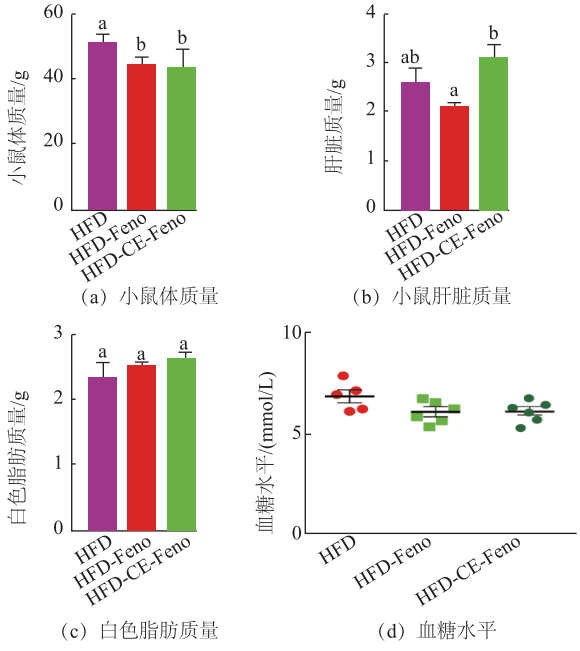
(a) 小鼠肝脏CE水平　(b) 小鼠肝脏中胆固醇油酸酯丰度

图 3　膳食补充 CE 对小鼠肝脏胆固醇酯水平的影响

Fig. 3　Effects of dietary CE on hepatic cholesterol levels of mice

2.3　膳食补充 CE 对非诺贝特药效的影响

如图 4 所示,非诺贝特治疗 10 周后,与 HFD-Feno 组相比,膳食补充 CE 在不影响体质量与白色脂肪质量的同时可增加小鼠肝脏质量。但与 HFD-Feno 组小鼠相比,HFD-CE-Feno 组小鼠的血糖水平没有显著改变。



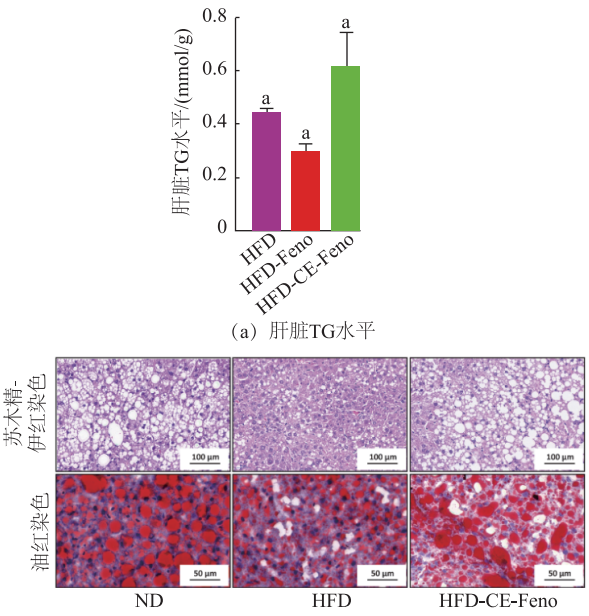
(a) 小鼠体质量　(b) 小鼠肝脏质量

(c) 白色脂肪质量　(d) 血糖水平

图 4　膳食补充 CE 对小鼠组织质量及血糖水平的影响

Fig. 4　Effects of dietary CE on tissue weight and blood glucose level of mice

从图 5(a)可知,HFD-CE-Feno 组小鼠肝脏中 TG 水平并未显著增加,但具有升高的趋势。小鼠肝脏的石蜡切片与冰冻切片染色结果也一致表明,膳食补充 CE 可削弱非诺贝特对 NAFLD 小鼠的治疗效果(见图 5(b))。



(a) 肝脏TG水平

(b) 小鼠肝脏切片

图 5 膳食补充 CE 对非诺贝特治疗小鼠肝脏的影响

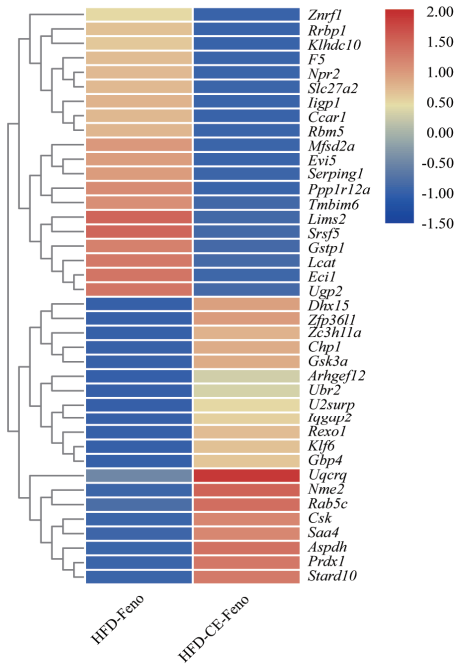
Fig. 5 Effect of dietary CE on the liver of mice treated with fenofibrate

2.4 补充 CE 对非诺贝特治疗的 NAFLD 小鼠肝脏脂质相关基因转录组水平的影响

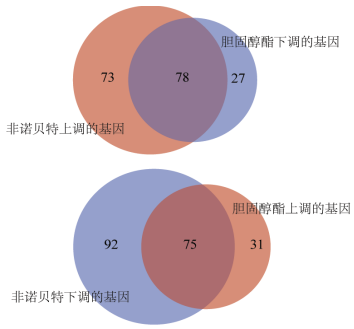
如图 6(a)所示,非诺贝特调控基因中倍数改变前 20 的基因聚类显示,在补充 CE 后,非诺贝特调控的基因呈现相反的变化。从图 6(b)可知,非诺贝特上调的 151 个基因中,有 78 个基因在膳食补充 CE 后下调;而在非诺贝特下调的 167 个基因中,有 75 个发生上调。

为进一步探究这些差异基因所参与的代谢途径,分别对两组差异基因进行 GO 富集分析。如图 7(a)所示,非诺贝特主要影响甘油三酯代谢、脂肪酸的 β 氧化以及 PPAR 信号通路,尤其是胆固醇酯化途径。而在 HFD–CE–Feno 组,补充 CE 主要影响甘油三酯代谢以及蛋白质入核(见图 7(b))。

从图 8 可知,在高脂饮食情况下,非诺贝特显著升高氧化磷酸化相关基因 *Atp5b* 以及 *Cycs* 在肝脏中的 mRNA 水平,而在 HFD–CE–Feno 组,两者均显著降低。同 HFD 组相比,非诺贝特显著升高 *Pparα* 以及 *Cpt1a* 的 mRNA 水平,而 CE 则逆转了非诺贝特对该基因的调控作用。尽管 CE 并未影响 *Fasn* 以及 *Acc1* 的表达,但补充 CE 后,*Dgat2* 的 mRNA 水平呈倍数增加,具有明显上升趋势。此外,非诺贝特显著降低胆固醇酯化基因 *Soat1* 与 *Soat2* 的表达,膳食补充 CE 抵消了非诺贝特的影响。由此



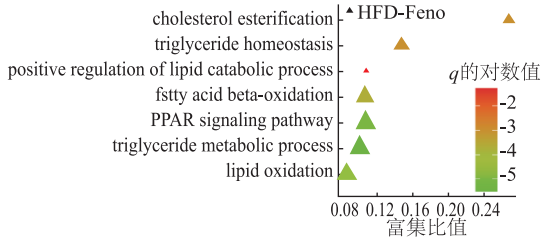
(a) 肝脏RNA-scq分析中前20个变化较大基因的热图



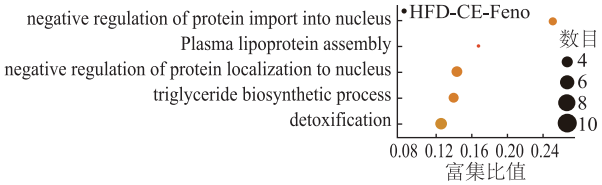
(b) 差异基因分析图

图 6 膳食补充 CE 对脂质相关基因表达的影响

Fig. 6 Effect of dietary CE on lipid–related gene expression



(a) 补充CE前小鼠肝脏的GO分析



(b) 补充CE后小鼠肝脏的GO分析

图 7 膳食补充 CE 对脂质相关通路的影响

Fig. 7 Effect of dietary CE on lipid–related pathways

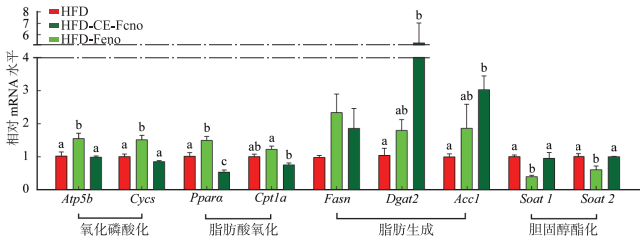


图 8　脂质相关通路基因的表达变化

Fig. 8　Changes in the expression of lipid-related pathway genes

可以推测，补充 CE 改变了非诺贝特对脂肪酸代谢以及胆固醇酯化的调控作用。

先前研究表明，肥胖与血液中 CE 水平显著相关，肥胖受试者肝脏中 CE 的水平相比于对照组增加了 3 倍[22]。成像数据显示在重症前列腺癌和转移的脂滴中存在酯化胆固醇的积累[18]。此外，CE 影响动脉粥样硬化[23-24]、乳腺癌[25]、白血病[26]和神经胶质瘤[27]等多种疾病，这表明 CE 也可能在疾病发展中起关键作用。

NAFLD 的发生通常与肝脏中甘油三酯的升高有关[28]，然而，最近的研究表明胆固醇稳态在NAFLD 中起着核心作用[29]。作为临床常用于治疗 NAFLD 的药物，非诺贝特与 TG 和高密度脂蛋白胆固醇水平的改善紧密相关[30-31]。然而，就非诺贝特对胰岛素敏感性和葡萄糖代谢的影响而言，结果喜忧参半[32-33]。在该研究中，膳食补充 CE 在增加小鼠肝脏中 CE 的同时削弱了非诺贝特对 NAFLD 小鼠的治疗效果。因此猜测非诺贝特临床治疗效果差异显著的一个潜在原因可能是患者肝脏中 CE 的水平不同，这可能是饮食中过量摄入 CE 导致的。此外，干预生活方式仍是目前治疗 NAFLD 的重要手段，通过控制饮食减轻体质量可显著减少肝脂肪变性和炎症[34]。因此合理适量的调整饮食，即减少非诺贝特治疗的 NAFLD 患者饮食中 CE 的摄入或可进一步改善药物的治疗效果。然而，CE 如何介入非诺贝特治疗 NAFLD 的具体机制仍需进一步研究。

3　结　语

膳食补充 CE 会增加小鼠肝脏中 CE 水平，在不影响体质量的同时抵消非诺贝特治疗小鼠 NAFLD 的效果。此外 CE 影响了甘油三酯代谢以及蛋白质入核过程，同时逆转了非诺贝特对氧化磷酸化、脂肪酸氧化以及脂质生成相关基因表达的调节作用。尽管 NAFLD 对人体健康造成很大影响，但治疗疾病可选择的方案仍然有限。因此，开发与 CE 相关的治疗 NAFLD 的手段以及探究如何通过膳食指导提高药物疗效应引起关注。

参考文献：

[1] YOUNOSSI Z M. Non-alcoholic fatty liver disease - a global public health perspective[J]. **Journal of Hepatology**, 2019, 70(3): 531-544.

[2] SALEHI-SAHLABADI A, SADAT S, BEIGREZAEI S, et al. Dietary patterns and risk of non-alcoholic fatty liver disease[J]. **BMC Gastroenterology**, 2021, 21(1): 1-12.

[3] ROMERO-GÓMEZ M, ZELBER-SAGI S, TRENELL M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise[J]. **Journal of Hepatology**, 2017, 67(4): 829-846.

[4] 李雅迪，柳陈坚，龚福明，等. 具有降胆固醇功能益生菌的筛选及其体外降胆固醇机制初探[J]. 食品与生物技术学报，2019，38(2)：153-159.

[5] VAN ROOYEN D M, LARTER C Z, HAIGH W G, et al. Hepatic free cholesterol accumulates in obese, diabetic mice and causes nonalcoholic steatohepatitis[J]. **Gastroenterology**, 2011, 141(4): 1393-1403.

[6] SINGH S, SINGH P P, SINGH A G, et al. Statins are associated with a reduced risk of hepatocellular cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. **Gastroenterology**, 2013, 144(2): 323-332.

[7] IOANNOU G N, MORROW O B, CONNOLE M L, et al. Association between dietary nutrient composition and the incidence of cirrhosis or liver cancer in the United States population[J]. **Hepatology**, 2009, 50(1): 175-184.

[8] LUO J, YANG H, SONG B L. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis[J]. **Nature Reviews: Molecular Cell Biology**, 2020, 21(4): 225-245.

[9] 陈薇，王友谊，张虹. 流动注射电喷雾串联质谱法分析食物基质中的胆固醇酯[J]. 营养学报，2013，35(1)：100-102.

[10] 朱庆英，裘爱泳，汤志勇，等. 猪油中胆固醇含量的测定[J]. 中国油脂，2002(4)：72-74.

[11] BITMAN J, WOOD D L. Cholesterol and cholesteryl esters of eggs from various avian species[J]. **Poultry Science**, 1980, 59(9):

2014-2023.
[12] 陆阳.有机化学[M].北京:人民卫生出版社,2018:193-194.
[13] TAN K C. Reverse cholesterol transport in type 2 diabetes mellitus[J]. **Diabetes,Obesity and Metabolism**,2009,11(6):534-543.
[14] ALTMANN S W,DAVIS H R,ZHU L J,et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption[J]. **Science**,2004,303(5661):1201-1204.
[15] GROBER J,LUCAS S,SÖRHEDE-WINZELL M,et al. Hormone-sensitive lipase is a cholesterol esterase of the intestinal mucosa [J]. **Journal of Biological Chemistry**,2003,278(8):6510-6515.
[16] LLAVERIAS G,REBOLLO A,POU J,et al. Effects of rosiglitazone and atorvastatin on the expression of genes that control cholesterol homeostasis in differentiating monocytes[J]. **Biochemical Pharmacology**,2006,71(5):605-614.
[17] VAN DER KANT R,LANGNESS V F,HERRERA C M,et al. Cholesterol metabolism is a druggable axis that independently regulates tau and amyloid-β in iPSC-derived Alzheimer's disease neurons[J]. **Cell Stem Cell**,2019,24(3):363-375.
[18] YUE S,LI J,LEE S Y,et al. Cholesteryl ester accumulation induced by PTEN loss and PI3K/AKT activation underlies human prostate cancer aggressiveness[J]. **Cell Metabolism**,2014,19(3):393-406.
[19] DELSING D J,OFFERMAN E H,VAN DUYVENVOORDE W,et al. Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase inhibitor avasimibe reduces atherosclerosis in addition to its cholesterol-lowering effect in ApoE*3-Leiden mice[J]. **Circulation**,2001,103(13):1778-1786.
[20] FERNANDEZ-MIRANDA C,PEREZ-CARRERAS M,COLINA F,et al. A pilot trial of fenofibrate for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease[J]. **Digestive and Liver Disease**,2008,40(3):200-205.
[21] 夏淑芳,乐国伟,王鹏,等. 杨梅酮对高脂诱导的肥胖小鼠脂肪肝的预防作用[J]. 食品与生物技术学报,2017,36(10):1077-1082.
[22] STAHLBERG D,RUDLING M,ANGELIN B,et al. Hepatic cholesterol metabolism in human obesity[J]. **Hepatology**,1997,25(6):1447-1450.
[23] FARESE R V J R,WALTHER T C. Lipid droplets finally get a little R-E-S-P-E-C-T[J]. **Cell**,2009,139(5):855-860.
[24] MURPHY D J. The biogenesis and functions of lipid bodies in animals,plants and microorganisms[J]. **Progress in Lipid Research**,2001,40(5):325-438.
[25] ANTALIS C J,ARNOLD T,RASOOL T,et al. High ACAT1 expression in estrogen receptor negative basal-like breast cancer cells is associated with LDL-induced proliferation[J]. **Breast Cancer Research and Treatment**,2010,122(3):661-670.
[26] MULAS M F,ABETE C,PULISCI D,et al. Cholesterol esters as growth regulators of lymphocytic leukaemia cells[J]. **Cell Proliferation**,2011,44(4):360-371.
[27] BEMLIH S,POIRIER M D,ELANDALOUSSI A. Acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase inhibitor avasimibe affect survival and proliferation of glioma tumor cell lines[J]. **Cancer Biology and Therapy**,2010,9(12):1025-1032.
[28] BROWNING J D ,HORTON J D. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury[J]. **Journal of Clinical Investigation**,2004,114(2):147-152.
[29] MIN H K,KAPOOR A,FUCHS M,et al. Increased hepatic synthesis and dysregulation of cholesterol metabolism is associated with the severity of nonalcoholic fatty liver disease[J]. **Cell Metabolism**,2012,15(5):665-674.
[30] MILLER M,STONE N J,BALLANTYNE C,et al. Triglycerides and cardiovascular disease:a scientific statement from the American Heart Association[J]. **Circulation**,2011,123(20):2292-2333.
[31] GRUNDY S M,BECKER D,CLARK L T,et al. Third report of the national cholesterol education program(NCEP) expert panel on detection,evaluation,and treatment of high blood cholesterol in adults(adult treatment panel III) final report[J]. **Circulation**,2002,106(25):3143-3421.
[32] KOH K K,QUON M J,LIM S,et al. Effects of fenofibrate therapy on circulating adipocytokines in patients with primary hypertriglyceridemia[J]. **Atherosclerosis**,2011,214(1):144-147.
[33] OKI K,KOIDE J,NAKANISHI S,et al. Fenofibrate increases high molecular weight adiponectin in subjects with hypertriglyceridemia[J]. **Endocrine Journal**,2007,54(3):431-435.
[34] BARRERA F,GEORGE J. The role of diet and nutritional intervention for the management of patients with NAFLD[J]. **Clinics in Liver Disease**,2014,18(1):91-112.