

槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷对游离脂肪酸诱导 HepG2 细胞脂肪变性的作用

王路路, 张志超, 吴诉诉, 尚 靖*

(中国药科大学新药筛选中心, 南京 210009)

摘 要 探讨槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷(quercetin-3-*O*- β -D-glucuronide, Q3GA) 对游离脂肪酸诱导的人源肝癌细胞 HepG2 细胞脂质蓄积的甘油三酯调节和氧化应激的作用及其可能的相关机制。采用油红染色检测 Q3GA 对游离脂肪酸诱导的 HepG2 细胞中脂滴含量的影响, 并同时检测其对甘油三酯和胆固醇的作用。DCFH-DA 法检测 Q3GA 对 HepG2 细胞脂质蓄积引起的活性氧(ROS)的变化; 硫代巴比妥酸法和黄嘌呤氧化酶法分别测定丙二醛(MDA)的含量和超氧化物歧化酶(SOD)的活性。RT-PCR 分析脂肪酸氧化相关的基因过氧化物酶体增殖物受体(PPAR α)、肉毒碱棕榈酰转移酶(CPT1A)、中链酰基辅酶 A 脱氢酶(MCAD)、细胞色素 P450 4A11(CYP4A11)、乙酰辅酶 A 氧化酶(ACO)的表达情况。实验结果显示, Q3GA 可剂量依赖性降低 FFA 诱导的 HepG2 细胞脂质蓄积和甘油三酯的含量, 但未降低胆固醇的含量。同时可改善脂肪酸氧化引起 ROS, MDA 的升高以及 SOD 的降低。另外, Q3GA 在一定浓度下可上调脂肪酸 β 氧化相关基因 PPAR α 、CPT1A、MCAD 的表达, 而对 CYP4A11 和 ACO 的表达没有促进作用。综上所述, Q3GA 可抵抗脂肪酸氧化引发肝细胞的氧化应激损伤, 保护 HepG2 细胞, 降低游离脂肪酸诱导 HepG2 细胞脂质蓄积和甘油三酯的含量, 其调节机制可能与其对 HepG2 细胞中游离脂肪酸氧化有关。

关键词 槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷; HepG2 细胞; 脂质沉积; 氧化应激

中图分类号 R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2015)05-0587-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150512

Effect of quercetin-3-*O*- β -D-glucuronide on free fatty acid induced steatosis in HepG2 cells

WANG Lulu, ZHANG Zhichao, WU Susu, SHANG Jing*

Drug Screening Center, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract The effects of quercetin-3-*O*- β -D-glucuronide (Q3GA) on the triglyceride metabolism and oxidative stress in steatotic HepG2 cells and the underlying mechanism were investigated in this study. Significant fat accumulation was documented by Oil Red O staining; intracellular triglyceride levels were detected by triglyceride (TG) enzymatic assay. DCFH-DA staining assay was performed to observe reactive oxygen species (ROS) production of HepG2 cells. The level of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were assayed by thibabitoric acid method and xanthine oxidase method. Changes in the mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α), carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A), medium chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD), cytochrome P450 4A11 (CYP4A11) and acyl-CoA oxidase (ACO), which are related with fatty acid oxidation were assessed by RT-PCR. Our results showed that Q3GA obviously reduced fat deposition and TG content. At the same time, Q3GA decreased MDA content and significantly increased the SOD activity with reduced ROS production. Moreover, the PPAR α , CPT1A, MCAD expression-related fatty acid β oxidation was upregulated with the treatment of Q3GA, while without any change of the expression of CYP4A11, ACO. In conclusion, Q3GA prevents FFA-induced HepG2 cell steatosis, and enhances mitochondrial fatty acid β oxidation, which

may partly be related to its anti-oxidation ability.

Key words quercetin-3-*O*- β -D-glucuronide; HepG2 cell; lipid accumulation; oxidative stress

This study was supported by the National Science & Technology Pillar Program during the Twelfth Five-Year Plan Period (No. 2012BAI30B01)

目前,在西方发达国家,非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)已经成为最普遍的慢性肝病^[1]。尽管多种假说已经存在,但是非酒精性脂肪肝病的病理机制仍不清楚。其中被广泛认可的学说为“二次打击学说”^[2]:首次打击为各种原因引起的脂肪肝变性和调节游离脂肪酸、甘油三酯代谢关键酶受损^[3-5],致使肝脏更容易对未知的二次打击敏感而发展为更严重的肝损伤。因此,改善肝脏脂代谢和脂肪蓄积可能成为治疗或阻止非酒精性脂肪肝病进展的治疗手段。

与正常人相比,NAFLD 患者血中游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)水平较高,FFA 将导致肝细胞毒性,包括潜在细胞毒性和细胞中脂质过度沉积,与 NAFLD 病变严重程度密切相关^[6-7]。FFA 代谢异常会导致肝实质细胞中脂质过度沉积,肝细胞摄入 FFA 过多会增加线粒体脂肪酸氧化,FFA 的脂毒性和脂质中间体损害肝细胞器,产生活性氧(ROS)和炎症因子激活,损伤胰岛素通路,导致胰岛素抵抗和肥胖^[8]。线粒体是第 1 个受到损伤的细胞器,氧化 FFA 能力下降,过氧化物酶体脂肪酸氧化代偿增加^[9]。本实验中选取 1 mmol/L FFA 刺激 HepG2 细胞,此时 HepG2 细胞发生明显的脂肪变性,但没有出现明显的细胞凋亡,此模型广泛用于 NAFLD 体外研究^[10]。

毛菊苣为新疆维吾尔医习用药材,近年来研究发现其具有抗炎和肝保护作用^[11-12]。而槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷(quercetin-3-*O*- β -D-glucuronide, Q3GA)(图 1)为毛菊苣主要黄酮类提取物。研究报道 Q3GA 有抗氧化、抗动脉粥样硬化等广泛的药理作用^[13-15],而对于 Q3GA 治疗 NAFLD 作用还未见报道,本实验考察 Q3GA 对 FFA 诱导 HepG2 细胞脂肪变性模型中脂质和 TG 的调节作用,以及抑制脂质过氧化引起的氧化应激作用,并通过对肝细胞脂肪酸氧化通路的研究探讨 Q3GA 的作用机制。

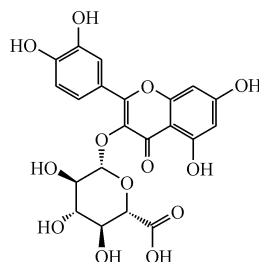


Figure 1 Chemical structure of quercetin-3-*O*- β -D-glucuronide (Q3GA)

1 材料

1.1 药品与试剂

槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷(上海晶纯生化科技股份有限公司,批号: Q111274,纯度为 97%);苯扎贝特(美国 Sigma Aldrich 公司,批号: 101142808,纯度超过 98%);BCA 蛋白定量试剂盒、ROS 检测试剂盒(碧云天生物技术有限公司);超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒、丙二醛(MDA)检测试剂盒、甘油三酯检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);引物(序列如表 1,南京伟沃生物科技有限公司);牛血清白蛋白(北京索莱宝公司);反转录试剂盒、PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司);DMEM 培养基、胎牛血清(美国 Gibco 公司);胰蛋白酶、油红 O 粉末、DMSO、青霉素、链霉素(美国 Sigma 公司);GoldView 染料、Tris、溴化乙锭(南京生兴生物公司);CCK-8 试剂(日本同仁化学研究所);其余试剂均为市售为分析纯。

1.2 仪器

BS 210 S 电子天平(德国 Sartorius 公司);Safire2 型多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司);X100 型倒置荧光显微镜(日本奥林巴斯公司);核算定量仪(美国 Amersham Biosciences 公司);反转录仪器、iCycler iQ5 QPCR 仪器、GelDoc XR System 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 细胞株

人源 HepG2 肝癌细胞,购自美国模式培养物集存库(ATCC)。

2 方 法

2.1 CCK-8 检测 Q3GA 对 HepG2 细胞毒性

将 HepG2 细胞以每孔 3×10^4 个的密度接种于 96 孔板中,用 DMEM 培养基 200 μL 培养 24 h;分别给予 0.01,0.1,1,10,100 $\mu\text{mol/L}$ 的 Q3GA,孵育 24 h 后;弃去含药培养基,用 PBS 洗两遍,加入含 10% CCK-8 的 DMEM 培养基培养;培养 1 h 后,每隔 30 min 测定在 450 nm 处吸收度;当吸收度在 0.8~1.2 之间时,计算细胞活力。

2.2 FFA 诱导高脂模型建立

将油酸(OA),棕榈酸(PA)按照物质的量比 2:1 溶于 DMSO 中,预热后加入含 5% 无游离脂肪酸牛血清白蛋白的培养基中,配成 $5 \times \text{FFA}$ 造模液,使用时加入培养基,制成含 1% 无游离脂肪酸 BSA 的培养基,DMSO 终浓度为 0.2%,刺激细胞 24 h,造成脂肪变性模型^[13]。

2.3 HepG2 细胞分组及给药

取生长状态良好的 HepG2 细胞消化传代,以每毫升 5×10^5 个细胞的密度接种于 6 孔板中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养。实验分组:正常对照组;模型组(1 mmol/L FFA);苯扎贝特组(100 $\mu\text{mol/L}$);Q3GA 低(10 $\mu\text{mol/L}$)、中(20 $\mu\text{mol/L}$)、高(40 $\mu\text{mol/L}$)剂量组。完全培养基培养 24 h 后,换用无血清的 DMEM 培养基同时造模加给药。

2.4 油红 O 染色

称取油红 O 粉末 0.5 g,溶于异丙醇 100 mL 中过夜,制成油红 O 储备液。使用时将油红 O 储备液与三蒸水按 3:2 体积比混合,定性滤纸过滤后即配制成工作液。将培养皿中培养基吸去,PBS 洗涤 3 遍,4% 多聚甲醛固定 15 min。弃去多聚甲醛,PBS 润洗 3 遍,每次 5 min。加油红 O 工作液染色,染色 15 min,弃去油红 O 染液,PBS 润洗 3 遍,每次 5 min,显微镜下拍照观察。

2.5 细胞内 TG、TC 含量检测

将 6 孔板中培养的细胞,每孔加裂解液 100 μL ,刮下细胞,冰上放置 20 min,12 000 r/min,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,取上清液,分别按照 TG 和 TC 试剂盒说明书操作,测定细胞中 TG 和 TC 含量。细胞内总蛋白含量采用 BCA 蛋白浓度测定法检测。

2.6 细胞内 ROS 含量检测

将肝细胞接种于 96 孔板中,培养 24 h 后,分组给予 FFA、苯扎贝特以及 Q3GA 孵育 24 h,弃去培养基,PBS 洗涤 2 次,加入含 2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)的无血清培养基,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 细胞培养箱内孵育 20 min,PBS 清洗 3 次后,用荧光酶标仪在激发波长为 488 nm,发射波长为 525 nm 检测荧光强度。

2.7 HepG2 细胞培养基中 MDA 含量、SOD 活性检测

将处理后的各组细胞冰冻破碎,3 000 r/min,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 5 min,收集上清液。按照试剂盒说明书操作,以硫代巴比妥酸法和黄嘌呤氧化酶法分别在 340 nm 及 550 nm 下测定吸收度,然后计算各组的丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性。

2.8 RT-PCR 测定 HepG2 细胞中脂肪酸氧化相关基因的表达

收集 6 孔板中各组细胞,采用 Trizol 法提取肝细胞中总 RNA。现将提取的总 RNA 按照逆转录试剂盒操作逆转为 cDNA,再依据普通逆转录 PCR 条件(40 个循环):95 $^{\circ}\text{C}$,5 min(预变性);95 $^{\circ}\text{C}$,30 s(变性);57 $^{\circ}\text{C}$,30 s(退火);72 $^{\circ}\text{C}$,2 min(延伸);72 $^{\circ}\text{C}$,10 min(延伸)。将单链 cDNA 扩增为双链 DNA。称取琼脂糖 1 g,加 Tri-乙酸溶液 50 mL,微波炉加热溶解,稍冷加 GoldView 染料 2.5 μL ,将适量的 PCR 产物双链 DNA 与溴化乙锭(0.5 $\mu\text{g/mL}$) 5 μL 混匀后上样,电泳 20 min,紫外拍照分析。

Table 1 Primers used for conventional reverse transcription PCR

Gene	Forward primer(5'→3')	Reverse primer(5'→3')
PPARα	CTAGAGAGCCCGTTATCTGAAGAGT	AATCGTTCCGCCGAAAGAAGC
CPT1A	CGATGTTACGACAGGTGCTTTG	CTACGAATGGGAAGGAATGGAA
MCAD	CCTGTAGTAGCTGCTGCTGCTG	TCTGATAGATTTTGGCATCCCTC
CYP4A11	ATGGATTGGGTACGGCTTGC	GCAGAGGTCAGGCTGTAGATGG
ACO	GGATGGTGACAAGTTGCTGGAAG	GGACTAGGCGCAGCAACATGA
GAPDH	CCCCTTCATTGACCTCAACTACAT	ATGAGTCCTTCCACGATACCAA

2.9 统计学处理

采用 GraphPad Prism 5 统计软件分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为显著性差异,并认为具有统计学意义。

3 结 果

3.1 CCK-8 检测 Q3GA 对 HepG2 细胞毒性

将 0.01, 0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 Q3GA 与 HepG2 细胞孵育 24 h,在给药浓度达 100 $\mu\text{mol/L}$ 时,没有检测到 Q3GA 对 HepG2 细胞活力产生明显影响(图 2)。

3.2 Q3GA 对 HepG2 细胞脂肪变性模型中脂滴、TG、TC 含量的影响

空白对照组肝细胞油红 O 染色后,可见少量小脂滴,FFA 造模后,脂滴含量显著上升,同时给予苯扎贝特和 Q3GA 的组中,脂滴含量与模型组相比都显著减少(图 3-A,B)。降脂效应与 Q3GA 给药剂量呈剂量依赖性。

与空白对照组相比,FFA 造模组甘油三酯含量

升高极为显著($P < 0.001$),给予苯扎贝特后非常显著地降低甘油三酯含量($P < 0.01$),同时给予 Q3GA 干预后,在低剂量 10 $\mu\text{mol/L}$ 时没有统计学差异,当在 20 和 40 $\mu\text{mol/L}$ 剂量时,均显著降低 HepG2 细胞脂肪变性模型中甘油三酯的含量,并且与剂量呈正相关(图 3-C)。而对于 FFA 刺激 24 h 后,各组中 HepG2 细胞内的 TC 含量没有发生明显变化(图 3-D)。

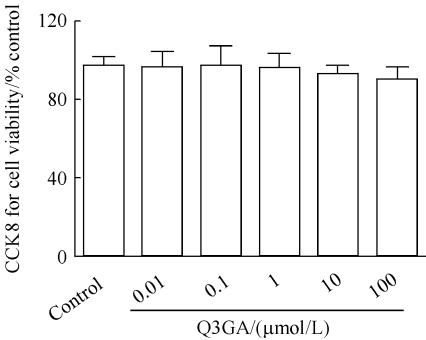


Figure 2 Effects of Q3GA on cell viability ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

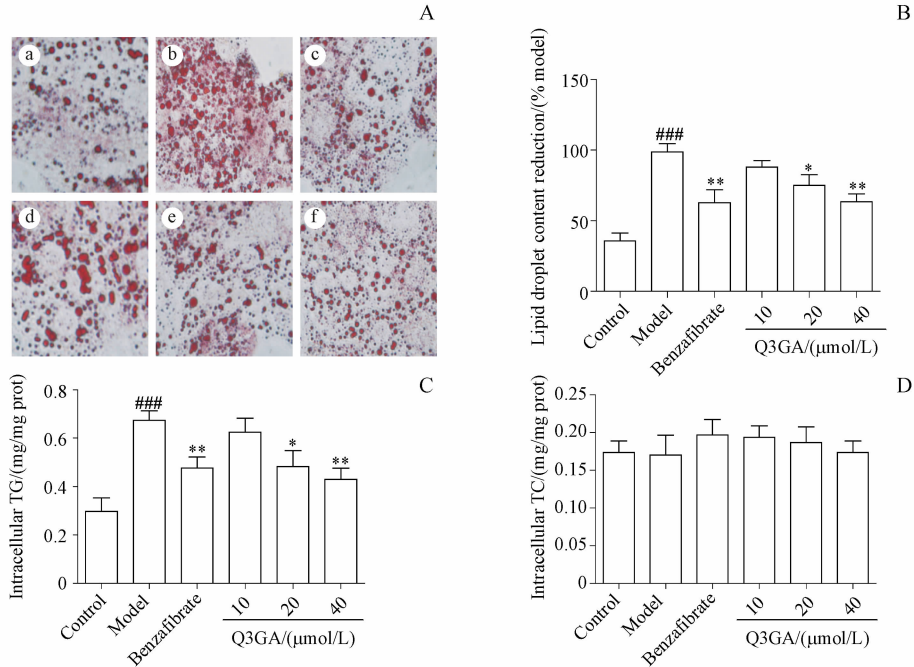


Figure 3 Effects of Q3GA on lipid droplets, triglyceride (TG), total cholesterol (TC) in free fatty acid (FFA) induced HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
A: Oil Red O staining ($\times 200$): (a) Control; (b) Model; (c) Benzaifibrate (100 $\mu\text{mol/L}$); (d) Q3GA (10 $\mu\text{mol/L}$); (e) Q3GA (20 $\mu\text{mol/L}$); (f) Q3GA (40 $\mu\text{mol/L}$); B: Quantification of lipid droplets content for each groups; C: TG content in HepG2 cells for each groups; D: TC content in HepG2 cells for each groups
$P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

3.3 Q3GA 对 HepG2 细胞脂肪变性模型中 ROS、SOD、MDA 含量的影响

与空白对照组相比,FFA 刺激 HepG2 细胞脂肪变性模型中 ROS 含量显著增多,通过 DCFH-DA 法可产生绿色荧光,当同时给予 10,20,40 μmol/L 的 Q3GA 后,绿色荧光强度显著降低,表明 HepG2 细胞中 ROS 含量发生了显著的减少(图 4-A,B)。

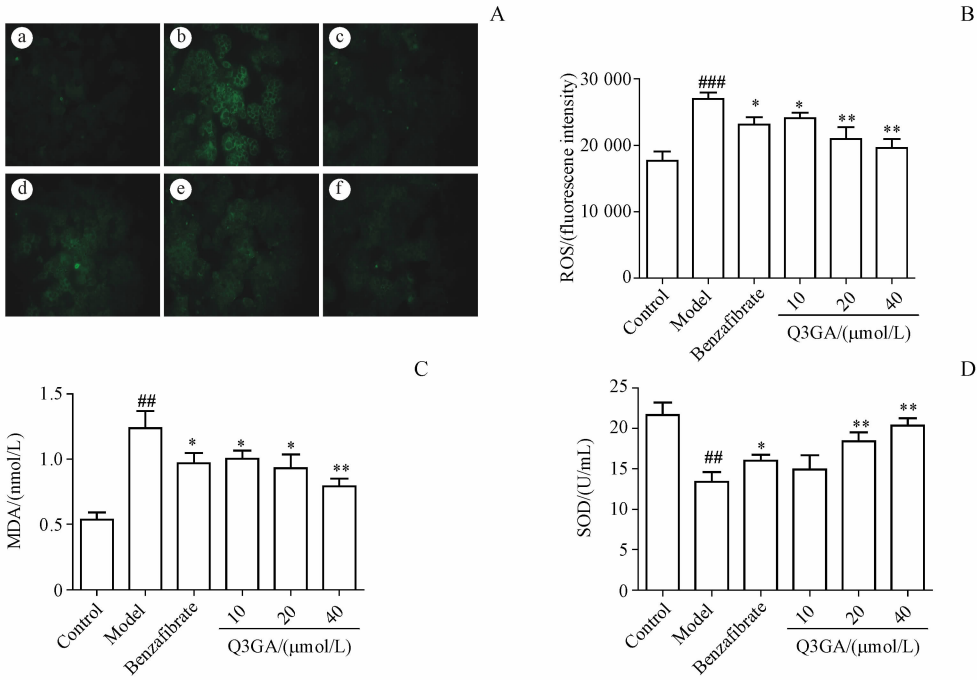


Figure 4 Effects of Q3GA on reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) in FFA induced HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
A: DCFH-DA staining ($\times 200$): (a) Control; (b) Model; (c) Benzafibrate (100 μmol/L); (d) Q3GA (10 μmol/L); (e) Q3GA (20 μmol/L); (f) Q3GA (40 μmol/L); B: Quantification of ROS content for each groups; C: MDA content in HepG2 cells for each groups; D: SOD content in HepG2 cells for each groups
$P < 0.01$, ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

3.4 Q3GA 对 HepG2 细胞脂肪变性模型中脂肪酸氧化基因表达的影响

与空白对照组比较,FFA 造模后,PPARα 基因表达没有显著变化,然而线粒体中脂肪酸氧化的关键基因 CPT1A 和 MCAD 表达下调,微粒体和过氧化物酶体脂肪酸氧化基因 CYP4A11、ACO 表达上调。与模型组对比,阳性药苯扎贝特上调了线粒体 (PPARα、MCAD)、过氧化物酶体 (ACO) 和微粒体 (CYP4A11) 脂肪酸氧化基因。与模型组比较,给予 Q3GA 对线粒体 β 氧化相关基因 PPARα、CPT1A 和 MCAD 显著上调,且呈剂量依赖性上调。而对微粒体和过氧化物酶体脂肪酸氧化相关基因 (ACO、CYP4A11) 没有表现出上调作用(图 5)。

FFA 刺激后,与对照组相比,脂质过氧化产物 MDA 含量非常显著升高。Q3GA 在低剂量时就可显著降低 MDA 的产生,并与剂量呈正相关(图 4-C)。与对照组相比,FFA 刺激使 HepG2 细胞 SOD 活性下降,给予阳性药苯扎贝特后 SOD 活性与模型组相比显著升高,给予 Q3GA 能提高 SOD 活性,且与剂量正相关(图 4-D)。

4 讨论

FFA 是机体中一个独特的分子,在能量储存,细胞膜合成以及信号分子转导等重要生理过程中扮演重要角色。FFA 代谢紊乱或失调,尤其是脂肪酸合成和氧化功能出现异常时,将会导致肥胖、动脉粥样硬化、胰岛素抵抗、高血脂、肝脏脂肪变性等疾病^[16-18]。FFA 氧化在能量代谢中起到重要作用,FFA 氧化水平的提高有助于降低脂质蓄积,而 FFA 氧化减少将会导致肥胖和肝脏脂肪变性^[19-20]。FFA 氧化主要有 3 种细胞器参与,线粒体和过氧化物酶体进行 FFA β 氧化,微粒体的 CYP4A 酶进行 FFA ω 氧化^[21-22]。以上 3 种脂肪酸氧化系统的关

键酶由 PPAR α 进行转录调节^[23-24]。

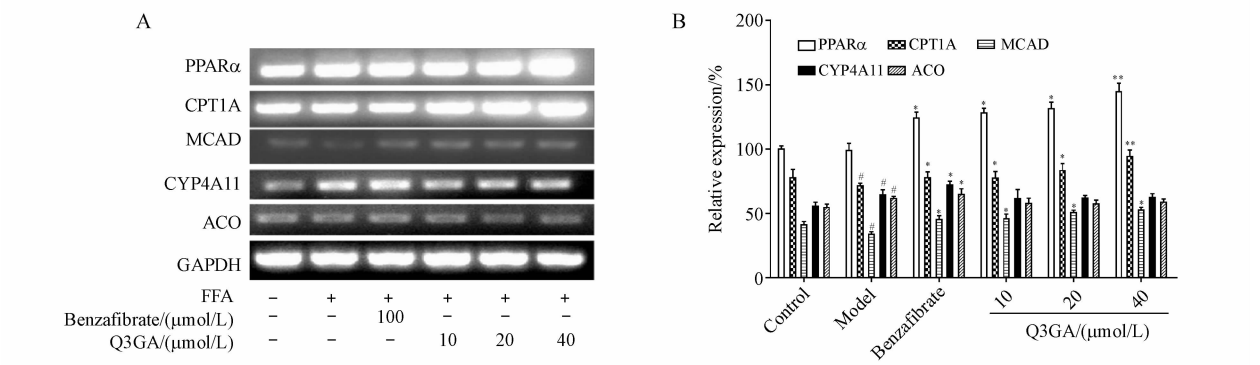


Figure 5 Effects of Q3GA on genes expression related fatty acids oxidation
A: Expressions of peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α), carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A), medium chain acyl-coA dehydrogenase (MCAD), cytochrome P450 4A11 (CYP4A11), acyl-CoA oxidase (ACO), and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) detected by RT-PCR assay following the treatments with the indicated concentrations of Q3GA for 24 h; B: Semi-quantitative RT-PCR analysis of PPAR, CPT-1A, MCAD, CYP4A11, and ACO/GAPDH ratios ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
$P < 0.05$ vs control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

正常肝细胞中脂肪酸主要通过线粒体脂肪酸 β 氧化作用提供机体能量,同时过氧化物酶体和微粒体有对长链脂肪酸和支链脂肪酸进行氧化的功能,但过氧化物酶体和微粒体脂肪酸氧化系统在脂肪酸氧化同时也会产生活性氧,当肝细胞中脂肪酸含量过高时,线粒体氧化能力饱和,过氧化物酶体和微粒体脂肪酸氧化作用增强,产生大量的 ROS,超出细胞自身清除能力时,就会损伤细胞,尤其是线粒体氧化功能,导致脂质蓄积和脂质过氧化损伤^[19,25]。临床上使用的贝特类降脂药物就是通过激活 PPAR α 降低甘油三酯^[26]。

本研究采用 1 mmol/L FFA 诱导 HepG2 细胞,造成肝细胞脂质沉积,模拟 NAFLD 体外实验模型,考察了 Q3GA 对该模型的治疗作用,本研究发现 Q3GA 可显著降低 HepG2 细胞脂肪变性模型中脂滴和 TG 的含量,推测 Q3GA 的降脂机制可能与肝细胞中脂肪酸氧化通路激活有关。PPAR α 在肝细胞脂肪酸代谢中起到重要作用,贝特类降脂药可通过激活 PPAR α 促进脂肪酸的氧化,本研究选用苯扎贝特作为阳性药,考察了 Q3GA 在此脂肪变性模型中 PPAR α 基因的表达,同时考察了肝细胞中参与脂肪酸氧化的线粒体、过氧化物酶体、微粒体 3 种细胞器中脂肪酸氧化关键基因的表达。发现 Q3GA 可上调 PPAR α 基因的表达,推测 Q3GA 机制与苯扎贝特相似。与苯扎贝特同时促进线粒体、过氧化物酶体、微粒体脂肪酸氧化不同, Q3GA 对

线粒体中脂肪酸氧化相关基因 CPT1A 和 MCAD 的表达有明显促进作用,而对于微粒体和过氧化物酶体脂肪酸的脂肪酸氧化相关基因 CYP4A11、ACO 的表达没有促进作用。

与苯扎贝特相同, Q3GA 同样升高了抗氧化酶 SOD 的活力,减少 ROS 和 MDA 导致的氧化应激损伤,但 Q3GA 给药剂量低于苯扎贝特。苯扎贝特可通过激活 PPAR α 通路上调 SOD 基因的表达,有一定的抗氧化作用^[27]。因为脂肪酸在微粒体和过氧化物酶体氧化会产生活性氧,造成氧化应激损伤,而 Q3GA 对微粒体和过氧化物酶体脂肪酸氧化没有促进作用,减少脂肪酸氧化时 ROS 生成,同时升高 SOD 的活力,减少 ROS 和 MDA 导致的氧化应激损伤,保护肝细胞功能。因此,本研究表明 Q3GA 不仅可上调线粒体中脂肪酸氧化减少肝细胞中脂质蓄积,而且抗氧化应激损伤,从而对肝细胞具有一定的保护作用。但是,本研究只是对 Q3GA 对肝细胞脂肪酸氧化和氧化损伤的初步研究,其具体作用机制还有待进一步研究。

参考文献

[1] Ibrahim MA, Kelleni M, Geddawy A. Nonalcoholic fatty liver disease: current and potential therapies [J]. *Life Sci*, 2013, **92** (2): 114-118.
[2] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits" [J]. *Gastroenterology*, 1998, **114** (4): 842-845.
[3] Sambasiva Rao M, Reddy JK. PPAR α in the pathogenesis of fatty

- liver disease[J]. *Hepatology*, 2004, **40**(4): 783–786.
- [4] Tailleux A, Wouters K, Staels B. Roles of PPARs in NAFLD: potential therapeutic targets [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1821**(5): 809–818.
- [5] Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart JC, *et al.* Sorting out the roles of PPAR α in energy metabolism and vascular homeostasis [J]. *J Clin Invest*, 2006, **116**(3): 571–580.
- [6] Ibrahim SH, Kohli R, Gores GJ. Mechanisms of lipotoxicity in NAFLD and clinical implications [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2011, **53**(2): 131–140.
- [7] Cusi K. Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications [J]. *Gastroenterology*, 2012, **142**(4): 711–725.
- [8] Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, *et al.* Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2006, **17**(1): 4–12.
- [9] Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, *et al.* Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it [J]. *Mitochondrion*, 2006, **6**(1): 1–28.
- [10] Gomez-Lechon MJ, Donato MT, Martínez-Romero A, *et al.* A human hepatocellular *in vitro* model to investigate steatosis [J]. *Chem Biol Interact*, 2007, **165**(2): 106–116.
- [11] Li Y. Hepatoprotective effect of uygur drug cichorium glandulosum and determination of the major active (维药毛菊苣保肝作用及有效成分含量测定) [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2012.
- [12] Cavin C, Delannoy M, Malnoe A, *et al.* Inhibition of the expression and activity of cyclooxygenase-2 by chicory extract [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **327**(3): 742–749.
- [13] Wu YB, Zheng LJ, Wu JG, *et al.* Antioxidant activities of extract and fractions from receptaculum nelumbinis and related flavonol glycosides [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, **13**(6): 7163–7173.
- [14] Ho L, Ferruzzi MG, Janle EM, *et al.* Identification of brain-targeted bioactive dietary quercetin-3-O-glucuronide as a novel intervention for Alzheimer's disease [J]. *FASEB J*, 2013, **27**(2): 769–781.
- [15] Derlindati E, Dall'Asta M, Ardigo D, *et al.* Quercetin-3-O-glucuronide affects the gene expression profile of M1 and M2a human macrophages exhibiting anti-inflammatory effects [J]. *Food Funct*, 2012, **3**(11): 1144–1152.
- [16] Boden G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2011, **18**(2): 139–143.
- [17] Georgiadi A, Kersten S. Mechanisms of gene regulation by fatty acids [J]. *Adv Nutr*, 2012, **3**(2): 127–134.
- [18] Zhang C, Wang G, Zheng Z, *et al.* Endoplasmic reticulum-tethered transcription factor cAMP responsive element-binding protein, hepatocyte specific, regulates hepatic lipogenesis, fatty acid oxidation, and lipolysis upon metabolic stress in mice [J]. *Hepatology*, 2012, **55**(4): 1070–1082.
- [19] Serra D, Mera P, Malandrino MI, *et al.* Mitochondrial fatty acid oxidation in obesity [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, **19**(3): 269–284.
- [20] Jeppesen J, Kiens B. Regulation and limitations to fatty acid oxidation during exercise [J]. *J Physiol*, 2012, **590**(5): 1059–1068.
- [21] Mannaerts GP, Van Veldhoven PP, Casteels M. Peroxisomal lipid degradation via β - and α -oxidation in mammals [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2000, **32**(1/2/3): 73–87.
- [22] Cintolesi A, Rodríguez-Moyá M, Gonzalez R. Fatty acid oxidation: systems analysis and applications [J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2013, **5**(5): 575–585.
- [23] Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism [J]. *Endocr Rev*, 1999, **20**(5): 649–688.
- [24] Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators [J]. *Nature*, 1990, **347**(6294): 645–650.
- [25] Martins AR, Nachbar RT, Gorjao R, *et al.* Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function [J]. *Lipids Health Dis*, 2012, **11**(30): 1–11.
- [26] Harano Y, Yasui K, Toyama T, *et al.* Fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor α agonist, reduces hepatic steatosis and lipid peroxidation in fatty liver Shionogi mice with hereditary fatty liver [J]. *Liver Int*, 2006, **26**(5): 613–620.
- [27] Schmilovitz-Weiss H, Hochhauser E, Cohen M, *et al.* Rosiglitazone and bezafibrate modulate gene expression in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease—a historical prospective [J]. *Lipids Health Dis*, 2013, **12**(41): 1–7.