

# 饥饿状态下 HNF4 $\alpha$ 对 MTP 的表达调控

瞿林兵<sup>1,2</sup>, 谭文娟<sup>1</sup>, 管敏<sup>1</sup>, 黄志伟<sup>1,2</sup>, 陈凌<sup>1,2</sup>

(1. 中国科学院广州生物医药与健康研究院, 广东广州 510530; 2. 中国科学技术大学生命科学学院, 安徽合肥 230027)

**摘要:** 肝细胞核因子 4 $\alpha$ (HNF4 $\alpha$ )是肝脏中一种重要的转录因子,其参与多个代谢途径的调控。微粒体甘油三酯转运蛋白(MTP)是极低密度脂蛋白装配和分泌过程的限速酶。C57BL/6J 小鼠中研究发现,饥饿可以诱导肝细胞 MTP 基因的表达。在 HepG2 细胞中进一步证实饥饿可以诱导 MTP 表达,同时 HNF4 $\alpha$  表达也显著上升。实验证实 MTP 是 HNF4 $\alpha$  的靶基因之一,用腺病毒介导的 HNF4 $\alpha$  过表达和 HNF4 $\alpha$  的激动剂均显著提高 MTP 的表达;HNF4 $\alpha$  特异性 siRNA 抑制 HNF4 $\alpha$  的表达,MTP 的 mRNA 和蛋白水平相应下调。结果证明,在饥饿状态下可以诱导 MTP 和 HNF4 $\alpha$  的表达,MTP 的表达量上升是受到 HNF4 $\alpha$  的转录调控。

**关键词:** 肝细胞核因子 4 $\alpha$ ;微粒体甘油三酯转运蛋白;饥饿

**中图分类号:** Q291 **文献标识码:** A **doi:**10.3969/j.issn.0253-2778.2010.07.003

## Starvation induced MTP expression in part through HNF4 $\alpha$

QU Linbing<sup>1,2</sup>, TAN Wenjuan<sup>1</sup>, GUAN Min<sup>1</sup>, WONG Chiwai<sup>1,2</sup>, CHEN Ling<sup>1,2</sup>

(1. Guangzhou Institute of Biomedicine and Health, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510530, China;

2. School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

**Abstract:** Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  (HNF4 $\alpha$ ) is an important transcription factor governing the expression of genes involved in multiple metabolic pathways. Microsomal triglyceride transfer protein (MTP) is a rate-limiting enzyme played a role in the assembly and secretion of very low density lipoproteins (VLDLs). Fasting induces MTP expression in C57BL/6J mice. In HepG2 cells, we further demonstrate that starvation induces MTP expression, meanwhile enhances HNF4 $\alpha$  mRNA level. It was found that MTP is an HNF4 $\alpha$  target gene. Moreover, adenovirus mediated HNF4 $\alpha$  overexpression and HNF4 $\alpha$  agonists induce MTP expression in HepG2 cells. HNF4 $\alpha$  specific siRNA represses HNF4 $\alpha$  and MTP expression. These results suggest that starvation induces MTP expression in part through HNF4 $\alpha$ .

**Key words:** Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ ; microsomal triglyceride transfer protein; starvation

## 0 引言

肝细胞核因子 4 $\alpha$ (Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ , HNF4 $\alpha$ ) 是细胞核受体超家族的成员之一,最

早证明其参与肝脏特异性基因的表达调控<sup>[1]</sup>。HNF4 $\alpha$  的活性受代谢产物和营养分子的调节,某些脂肪酸的辅酶 A(CoA)衍生物能作为配体结合到 HNF4 $\alpha$  的配体结合域且激活其下游的信号途

收稿日期:2010-03-24;修回日期:2010-05-23

基金项目:国家重点基础研究发展(973)计划(2006CB50390)和中国科学院知识创新计划(KSCX2-YW-R-085)资助。

作者简介:瞿林兵,男,1982年生,学士。研究方向:磷脂酶 A2 基因敲除小鼠表型研究。E-mail: qulinbin@mail.ustc.edu.cn

通讯作者:陈凌,博士/研究员。E-mail: chen\_ling@gibh.ac.cn

径<sup>[2-3]</sup>. HNF4 $\alpha$  参与调控糖异生过程的关键酶,包括磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶<sup>[4]</sup> (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) 和葡萄糖-6-磷酸酶<sup>[5]</sup> (glucose-6-phosphatase, G6P). 在禁食的小鼠中,肝细胞中 PEPCK 和 G6P 的表达显著上升,从而对糖异生产生强力的刺激作用;比较 HNF4 $\alpha$  缺失组和对照组小鼠在禁食状态下的肝细胞中糖异生相关酶的表达情况,发现禁食相同时间后,与对照组相比,缺失小鼠不能表达 PEPCK 和 G6P<sup>[6]</sup>. HNF4 $\alpha$  通过结合到这些基因启动子的激素效应元件 (HRE) 并招募辅激活因子,如过氧化物酶体增生体活化受体  $\gamma$  辅激活因子 1 $\alpha$  (PGC1 $\alpha$ ), 来参与调控基因的表达<sup>[7]</sup>. HNF4 $\alpha$  肝脏特异性敲除的小鼠脂质代谢缺陷,肝代谢紊乱且血清中甘油三酯和胆固醇水平降低<sup>[8]</sup>.

微粒体甘油三酯转运蛋白 (microsomal triglyceride transfer protein, MTP) 主要在肝脏和小肠表达,在极低密度脂蛋白和乳糜微粒的包装和分泌过程中发挥重要作用. MTP 的催化亚基与二硫键异构酶形成同源二聚体,转运甘油三酯、胆固醇酯和磷脂到内质网新合成的载脂蛋白 ApoB, 装配成极低密度脂蛋白或乳糜微粒<sup>[9-10]</sup>. 在 MTP 缺失的情况下,脂蛋白的包装被阻断, ApoB 蛋白通过泛素化途径被降解<sup>[11-12]</sup>; 从而导致低血脂蛋白、低血甘油三酯等症状,并伴随着脂肪肝的形成<sup>[13-16]</sup>. 相反,如果 MTP 蛋白过量表达则会促进脂蛋白的包装分泌,而形成高血脂症<sup>[17]</sup>.

HNF4 $\alpha$  在肝脏中高表达,并参与调节肝脏中大量基因的组成型表达. 禁食 C57BL/6J 小鼠肝细胞内 HNF4 $\alpha$  受到诱导调控,其表达量明显高于正常饮食小鼠. 鼯鼠 (*Suncus Murinus*) 在禁食状态下很容易形成脂肪肝<sup>[19]</sup>, 其主要是因为鼯鼠肝脏中 MTP 的活性相较其他种属低很多<sup>[20]</sup>, 而 MTP 是极低密度脂蛋白装配分泌过程的限速酶,从而脂质不能正常装配形成极低密度脂蛋白输出肝脏. 本文试图阐明,在饥饿状态下 MTP 表达情况,以及 HNF4 $\alpha$  在饥饿状态下对肝脏脂质代谢的影响. 研究证明,在饥饿状态下可以诱导 MTP 和 HNF4 $\alpha$  的表达, MTP 的表达量上升是受到 HNF4 $\alpha$  的转录调控.

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

C57BL/6J 小鼠购自中山大学附属医院实验动物中心; Top10 感受态细胞由实验室自备; Taq-

DNA 聚合酶、dNTPs、核酸内切酶购自 Takara; DMEM 高糖培养基、1640 培养基购自广州威佳生物科技有限公司; Trizol RNA 提取试剂盒、Lipofect2000 转染试剂购自 Invitrogen; 逆转录试剂盒、荧光素酶检测试剂盒购自 Promega; 琼脂糖胶回收试剂盒、质粒小提试剂盒购自天根公司; 丙酸盐和丁酸盐购自 Sigma 公司; HNF4 $\alpha$  和 MTP 抗体、HNF4 $\alpha$  siRNA 购自 Santa cruz 公司.

### 1.2 质粒构建

从 HepG2 细胞基因组中扩增出 MTP 启动子,克隆到 pGL3 Basic (Promega) 载体上. 从 HepG2 细胞 cDNA 中分别扩增出 HNF4 $\alpha$  和 PGC1 $\alpha$  CDS 全长,克隆到 pCMV6 ((Origene) 载体上.

### 1.3 腺病毒载体构建

从 HepG2 细胞 cDNA 中扩增出 HNF4 $\alpha$  CDS 全长,克隆到 pGA1 载体上,将 pGA1-HNF4 $\alpha$  与 pAd5 载体进行同源重组,得到 pAd5-HNF4 $\alpha$  载体. 将线性化的 pAd5-HNF4 $\alpha$  转染到 Trex-293 细胞中,拯救获得携带 HNF4 $\alpha$  基因的病毒 (Ad5-HNF4 $\alpha$ ), 用 CsCl 梯度密度离心纯化病毒.

### 1.4 转染和荧光素酶检测

HeLa 细胞以 10000 个/孔的密度接种到 96 孔板上,用 Lipofect2000 共转染 pGL3-MTP 及 HNF4 $\alpha$  和 PGC1 $\alpha$  全长表达载体,以 pRL22.7 作为内参. 转染 6 h 后,换成不含氨红的完全培养基培养,18 h 后,用 Promega 公司双报告系统检测荧光素酶;丙酸盐、丁酸盐和胰岛素处理组,转染 6 h 后分别加入终浓度为 2.5 mmol/L 的丙酸盐、丁酸盐和 100 nmol/L 胰岛素.

### 1.5 总 RNA 提取及荧光定量 PCR

利用 Trizol 分别提取小鼠肝脏和 HepG2 细胞的总 RNA,以 Oligo (dT)<sub>18</sub> 为模板反转录获得 cDNA 的第一链. 用 Sybr Green 荧光定量的方法,分别检测上述样品中 MTP, HNF4 $\alpha$ , G6P, GAPDH 等基因的相对含量.

### 1.6 Western Blot 检测蛋白表达

用携带 HNF4 $\alpha$  的腺病毒感染与 10 nmol/L 和 40 nmol/L HNF4 $\alpha$  siRNA 转染<sup>[21]</sup> 的 HepG2 细胞 48 h 后,收集细胞裂解液,电泳转膜,5% 脱脂牛奶封闭 1 h,兔源 HNF4 $\alpha$  抗体或 MTP 抗体孵育 1 h,用 HRP 标记的抗兔二抗孵育,暗室化学发光显影.

### 1.7 C57BL/6J 小鼠和细胞处理

C57BL/6J 饲养在恒温恒湿、12 h 白天/12 h 夜

晚的屏障环境中,将小鼠分为 2 组( $n=6$ ),实验组禁食 24 h,对照组自由取食,24 h 后处死收集肝脏大叶,用于提取 RNA 和荧光定量分析组织中的基因表达量。

HeLa 和 HepG2 细胞分别用含 10% 小牛血清的 DMEM 高糖和 1640 培养基培养。细胞铺板贴壁后,分别进行 2.5 mmol/L 丙酸盐和丁酸盐处理、血清饥饿、100 nmol/L 胰岛素处理,以及转染 10 nmol/L 和 40 nmol/L HNF4 $\alpha$  siRNA,用于提取 RNA 和荧光定量分析组织中的基因表达量。

## 2 结果和讨论

### 2.1 饥饿状态下肝细胞内 MTP 表达量上升

研究发现,禁食 24 h 可以显著诱导 C57BL/6J 小鼠肝脏 MTP 基因的表达,禁食组 MTP mRNA 表达水平是正常饮食组的 2.17 倍(图 1)。鼯鼠(*Suncus Murinus*)在禁食状态下很容易形成脂肪肝,并且其血清中 ApoB 蛋白含量很低<sup>[19]</sup>。研究证明,鼯鼠不能正常装配形成极低密度脂蛋白,输出到血清中的富含 ApoB 的脂蛋白仅是大鼠的 13.8%<sup>[22]</sup>,其主要是因为鼯鼠肝脏中 MTP 的活性相较其他种属低很多<sup>[20]</sup>。这些结果暗示,MTP 的表达水平及活性在禁食小鼠肝脏脂质输出过程发挥重要作用。

在肝癌细胞 HepG2 中也证实相似结果:将携带 MTP 启动子的荧光素酶报告载体转染到 HepG2 细胞中,在血清饥饿的培养条件下(0.1% FBS)荧光素酶的活性明显高于正常培养组(10% FBS),是

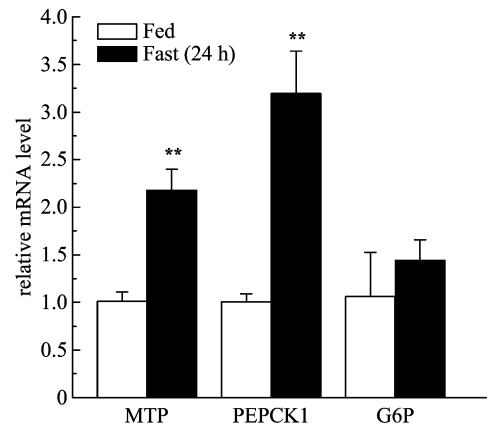
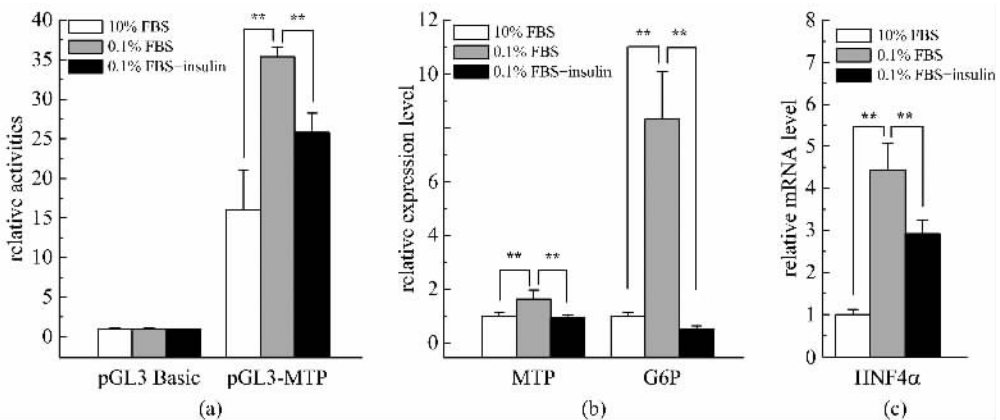


图 1 禁食状态诱导小鼠肝脏 MTP 基因表达  
Fig. 1 Fasting induces hepatic MTP expression in C57BL/6J mice

正常培养组的 2.7 倍;然而,在 0.1% FBS 培养基中加入胰岛素后,荧光素酶的活性显著降低(图 2(a)). HepG2 内源性 MTP mRNA 水平的变化和启动子报告系统一致,血清饥饿细胞内 MTP 的 mRNA 水平上升,这种现象可以被胰岛素逆转(图 2(b)). 上述结果表明,MTP 的表达水平受到饥饿状态的诱导。

同时,在血清饥饿的 HepG2 细胞中研究发现,HNF4 $\alpha$  的表达水平也明显升高,而且 HNF4 $\alpha$  表达水平的升高也可以被胰岛素抑制(图 2(c)). Xie 等<sup>[18]</sup>研究证实,禁食 C57BL/6J 小鼠肝细胞内 HNF4 $\alpha$  受到诱导调控,其表达量明显高于正常饮食小鼠. 上述论据证明,饥饿可以同时诱导 MTP 和 HNF4 $\alpha$  的表达。



(a) pGL3-MTP 转染 HepG2 细胞,6 h 后分别 10% FBS,0.1% FBS 和 0.1% FBS/100 (nmol · L<sup>-1</sup>) 胰岛素处理,检测 MTP 启动子转录活性;  
(b) 分别 10% FBS,0.1% FBS 和 0.1% FBS/100 (nmol · L<sup>-1</sup>) 胰岛素处理 HepG2 细胞,24 h 后分析 MTP mRNA 水平;  
(c) 分别 10% FBS,0.1% FBS 和 0.1% FBS/100 (nmol · L<sup>-1</sup>) 胰岛素处理 HepG2 细胞,24 h 后分析 HNF4 $\alpha$  mRNA 水平

图 2 血清饥饿的细胞内 MTP 和 HNF4 $\alpha$  表达水平

Fig. 2 Starvation up-regulate MTP expression in part through HNF4 $\alpha$

## 2.2 HNF4 $\alpha$ 转录调控 MTP 的表达

HNF4 $\alpha$  参与调节极低密度脂蛋白的装配和分泌,而 MTP 是极低密度脂蛋白装配过程的限速酶.根据上述证据提出假说:饥饿状态下 MTP 表达水平的变化可能是受到 HNF4 $\alpha$  调控的.为了证明假说的正确性,将携带 MTP 启动子的荧光素酶报告载体和 HNF4 $\alpha$  共转染到 HeLa 细胞中.与转染 pcDNA4 的对照组相比,过表达 HNF4 $\alpha$  可以提高 MTP 启动子的转录效率,荧光素酶的活性显著升高(图 3(a));仅转染 PGC1 $\alpha$  不能促进 MTP 启动子的转录效率,但是 PGC1 $\alpha$  可以提高 HNF4 $\alpha$  的调控效率.用携带 HNF4 $\alpha$  基因的腺病毒感染 HepG2 细胞,HNF4 $\alpha$  蛋白表达量显著升高,MTP 的 mRNA 表达水平相应地上升.实验表明,HNF4 $\alpha$  可以转录调控 MTP 基因的表达.

## 2.3 HNF4 $\alpha$ 激动剂上调 MTP 基因的表达

短链脂肪酸,如丙酸和丁酸,是 HNF4 $\alpha$  的配体,可以提高 HNF4 $\alpha$  的活性<sup>[23]</sup>.研究中使用丙酸盐和丁酸盐提高 HNF4 $\alpha$  的活性并检测其对 MTP 表达水平的影响.将携带 MTP 启动子的荧光素酶报告载体和 HNF4 $\alpha$  表达载体共转染到 HeLa 细胞中,6 h 后在培养基中加入 2.5 mmol/L 的丙酸盐和丁酸盐.如图 4(a)所示,丙酸盐和丁酸盐可以进一

步提高 HNF4 $\alpha$  对 MTP 启动子的转录调控作用.用丙酸盐和丁酸盐处理 HepG2 细胞 12 h,可以提高内源性 HNF4 $\alpha$  的活性,从而激活 MTP 基因的表达(图 4(b)).

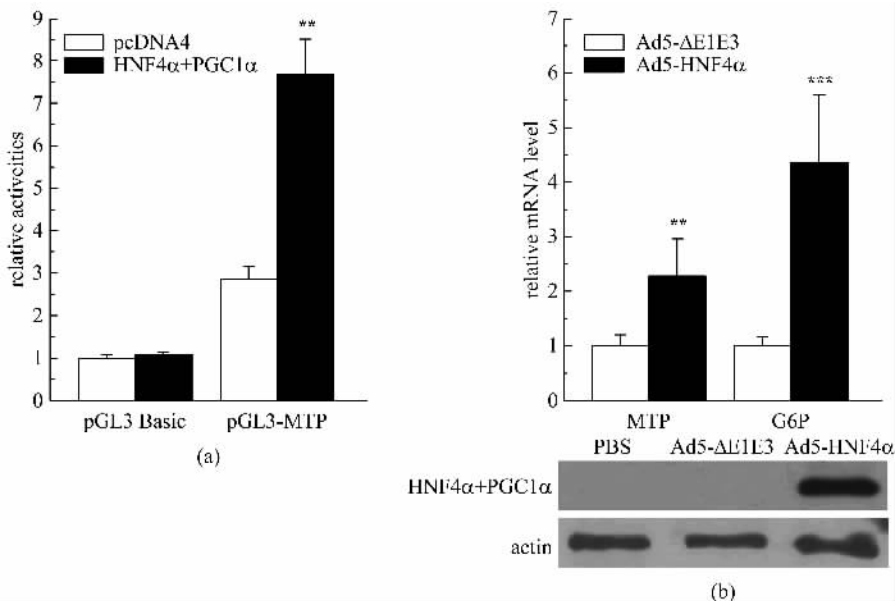
## 2.4 HNF4 $\alpha$ siRNA 下调 MTP 基因的表达

为了直接证明 HNF4 $\alpha$  对 MTP 的转录调控,研究中使用 10 nmol/L 和 40 nmol/L HNF4 $\alpha$  siRNA 转染 HepG2 细胞.24 h 后,细胞内源性 HNF4 $\alpha$  mRNA 水平分别下降了 35% 和 66%,相应的 MTP mRNA 分别下降 30% 和 52%(图 5(a));细胞内源性 HNF4 $\alpha$  和 MTP 蛋白质水平的变化与 mRNA 一致(图 5(b)).此论据直接证明了 MTP 受到 HNF4 $\alpha$  的转录调控.

本文结果证明,在饥饿状态下,诱导肝细胞内 HNF4 $\alpha$  表达水平上升,从而使细胞内 MTP 基因表达水平上升.当饥饿诱导脂肪肝形成时,同时诱导 MTP 表达,促进脂质从肝脏输出,这是机体的一种正反馈调节.

## 3 结论

综上所述,本文研究发现饥饿可以诱导 MTP 基因的表达,通过体内体外实验证明,饥饿同时诱导 HNF4 $\alpha$  的表达.利用荧光素酶双报告系统、腺病毒

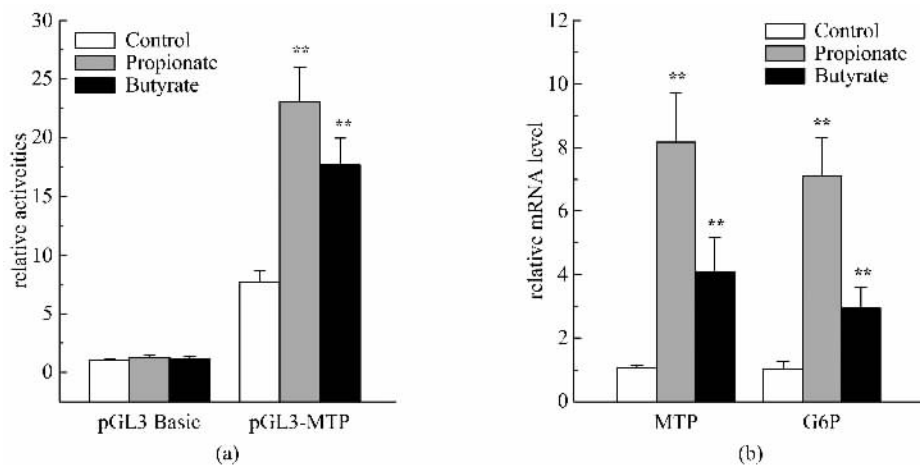


(a) MTP 启动子受 HNF4 $\alpha$  调节, pGL3 Basic 和 pGL3-MTP 与 HNF4 $\alpha$ /PGC1 $\alpha$  共转染 HeLa 细胞;

(b) Ad5-HNF4 $\alpha$  (MOI=10) 感染 HepG2 细胞, 分析 MTP 的表达水平

图 3 HNF4 $\alpha$  转录调控 MTP 的表达

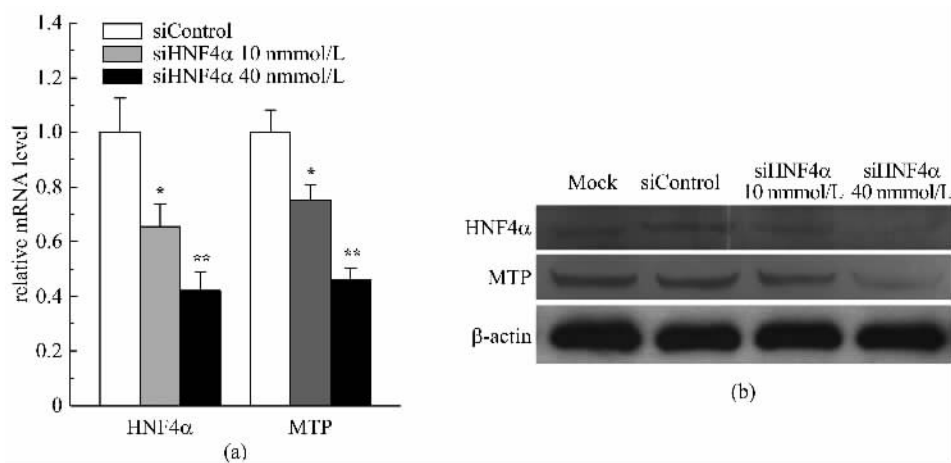
Fig. 3 HNF4 $\alpha$  targets on MTP promoter and adenovirus mediated HNF4 $\alpha$  overexpression elevates MTP mRNA expression level



(a) pGL3 Basic 和 pGL3-MTP 与 HNF4 $\alpha$ /PGC1 $\alpha$  共转染 HeLa 细胞, 6 h 后加入终浓度为 2.5 mmol/L 的丙酸盐和丁酸盐; (b) 2.5 mmol/L 的丙酸盐和丁酸盐处理 HepG2 细胞, 10 h 后检测 MTP 的 mRNA 水平

图 4 HNF4 $\alpha$  激动剂上调 MTP 基因的表达

Fig. 4 Agonists of HNF4 $\alpha$  enhance MTP promoter activity and induce MTP mRNA expression level



(a) 10 nmol/L 和 40 nmol/L HNF4 $\alpha$  siRNA 转染 HepG2 细胞, 24 h 后分析 HNF4 $\alpha$  和 MTP 的 mRNA 水平; (b) 10 nmol/L 和 40 nmol/L HNF4 $\alpha$  siRNA 转染 HepG2 细胞, 24 h 后分析 HNF4 $\alpha$  和 MTP 的蛋白质水平

图 5 抑制 HNF4 $\alpha$  表达下调 MTP 基因的表达

Fig. 5 Inhibition of HNF4 $\alpha$  expression results in down-regulation of MTP in HepG2 cells

介导的 HNF4 $\alpha$  的过表达以及 siRNA 干扰等技术, 证实了 MTP 是 HNF4 $\alpha$  的靶基因之一。

#### 参考文献(References)

- [1] Sladek F M, Zhong W M, Lai E, et al. Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily [J]. *Genes & development*, 1990, 4: 2 353-2 365.
- [2] Hertz R, Magenheimer J, Berman I, et al. Fatty acyl-CoA thioesters are ligands of hepatic nuclear factor-4 $\alpha$  [J]. *Nature*, 1998, 392: 512-516.
- [3] Petrescu A D, Hertz R, Bar-Tana J, et al. Ligand specificity and conformational dependence of the hepatic

nuclear factor-4 $\alpha$  (HNF-4 $\alpha$ ) [J]. *The Journal of biological chemistry*, 2002, 277: 23 988-23 999.

- [4] Hall R K, Sladek F M, Granner D K. The orphan receptors COUP-TF and HNF-4 serve as accessory factors required for induction of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene transcription by glucocorticoids [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92: 412-416.
- [5] Rajas F, Gautier A, Bady I, et al. Polyunsaturated fatty acyl coenzyme A suppress the glucose-6-phosphatase promoter activity by modulating the DNA binding of hepatocyte nuclear factor 4 alpha [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277: 15 736-

- 15 744.
- [ 6 ] Rhee J, Inoue Y, Yoon J C, et al. Regulation of hepatic fasting response by PPAR $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  (PGC-1): Requirement for hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  in gluconeogenesis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(7): 4 012-4 017.
- [ 7 ] Yoon J C, Puigserver P, Chen G, et al. Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1 [J]. *Nature*, 2001, 413: 131-138.
- [ 8 ] Hayhurst G P, Lee Y H, Lambert G, et al. Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2001, 21: 1 393-1 403.
- [ 9 ] Wetterau J R, Lin M C, Jamil H. Microsomal triglyceride transfer protein [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1997, 1 345: 136-150.
- [10] White D A, Bennett A J, Billett M A, et al. The assembly of triacylglycerol-rich lipoproteins: an essential role for the microsomal triacylglycerol transfer protein [J]. *Br J Nutr*, 1998, 80: 219-229.
- [11] Benoist F, Grand-Perret T. Co-translational degradation of apolipoprotein B100 by the proteasome is prevented by microsomal triglyceride transfer protein: Synchronized translation studies on HepG2 cells treated with an inhibitor of microsomal triglyceride transfer protein [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272: 20 435-20 442.
- [12] Fisher E A, Zhou M, Mitchell D M, et al. The degradation of apolipoprotein B100 is mediated by the ubiquitin-proteasome pathway and involves heat shock protein 70 [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272: 20427-20434.
- [13] Wetterau J R, Aggerbeck L P, Bouma M E, et al. Absence of microsomal triglyceride transfer protein in individuals with abetalipoproteinemia [J]. *Science*, 1992, 258: 999-1 001.
- [14] Sharp D, Blinderman L, Combs K A, et al. Cloning and gene defects in microsomal triglyceride transfer protein associated with abetalipoproteinemia [J]. *Nature*, 1993, 365: 65-69.
- [15] Chang B H J, Liao W, Li L, et al. Liver-specific inactivation of the abetalipoproteinemia gene completely abrogates very low density lipoprotein/low density lipoprotein production in a viable conditional knockout mouse [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274: 6 051-6 055.
- [16] Raabe M, Veniant M M, Sullivan M A, et al. Analysis of the role of microsomal triglyceride transfer protein in the liver of tissue-specific knockout mice [J]. *J Clin Invest*, 1999, 103: 1 287-1 298.
- [17] Tietge U J F, Bakillah A, Maugeais C, et al. Hepatic overexpression of microsomal triglyceride transfer protein (MTP) results in increased in vivo secretion of VLDL triglycerides and apolipoprotein B [J]. *J Lipid Res*, 1999, 40: 2 134-2 139.
- [18] Xie Xuefen, Liao Hailing, Dang Huaixin, et al. Down-Regulation of Hepatic HNF4 $\alpha$  Gene Expression during Hyperinsulinemia via SREBPs [J]. *Mol Endocrinol*, 2009, 23(4): 434-443.
- [19] Yasuhara M, Ohama T, Matsuki N, et al. Induction of fatty liver by fasting in suncus [J]. *Journal of Lipid Research*, 1991, 32: 887-891.
- [20] Yi-Qiang L, Maeda T, Fujimaki Y, et al. Role of microsomal triglyceride transfer protein in induction of fatty liver in suncus [J]. *Hepatology Research*, 1999, 16(1): 19-25.
- [21] Prieur X, Schaap F G, Coste H, et al. Hepatocyte nuclear factor-4 $\alpha$  regulates the human apolipoprotein AV gene : Identification of a novel response element and involvement in the control by peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ , AMP-activated protein kinase, and mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *Molecular Endocrinology*, 2005, 19(12): 3 107-3 125.
- [22] Nagayoshi A, Matsuki N, Saito H, et al. Defect in assembly process of very-low-density lipoprotein in suncus liver: an animal model of fatty liver [J]. *J Biochem*, 1995, 117: 787-793.
- [23] Massillon D, Arinze I J, Xu C, et al. Regulation of glucose-6-phosphatase gene expression in cultured hepatocytes and H4IIE cells by short-chain fatty acids: Role of hepatic nuclear factor-4 $\alpha$  [J]. *The Journal of biological chemistry*, 2003, 278(42): 40 694-40 701.