

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.08.005

## MicroRNA-185 改善非酒精性脂肪肝小鼠胰岛素敏感性 并调节脂代谢基因的表达\*

于俊杰<sup>1</sup> 詹晓蓉<sup>2Δ</sup> 王晓辰<sup>2</sup> 李新宇<sup>2</sup> 刘晓民<sup>2</sup>

(1 哈尔滨医科大学附属第二医院内分泌科 黑龙江 哈尔滨 150001;

2 哈尔滨医科大学附属第一医院内分泌科 黑龙江 哈尔滨 150001)

**摘要 目的:**探讨 microRNA-185(miR-185)对高脂饮食的小鼠模型的 HepG2 肝细胞脂质代谢和胰岛素信号通路的调节作用。**方法:**应用定量反转录聚合酶链反应评估过表达或抑制 miR-185 表达脂质合成相关基因的 mRNA 水平。此外,应用 Western Blot 方法测定转染 HepG2 细胞 pre-mir-185 后的关键信号通路组分(IRS-1, IRS-2, PI3K、AKT2)和磷酸化 PI3K 和 AKT2 的表达情况。**结果:**诱导的人类 HepG2 细胞的软脂酸对 miR-185 水平的下降具有时间和剂量依赖性。经过 miR-185 转染的 HepG2 细胞显著降低脂肪酸合成酶, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coa 还原酶, 固醇调节元件结合蛋白和固醇调节元件结合蛋白-1c 的 mRNA 水平, 而使用 anti-mir-185 寡核苷酸抑制 miR-185 在 HepG2 细胞中产生相反的作用。在高脂饮食的小鼠模型, 与对照组动物相比, miR-185 处理后脂质积累明显改善。miR-185 诱导后通过上调胰岛素受体底物 2 增强胰岛素信号通路。**结论:**miR-185 在体内和体外调节肝细胞脂肪酸代谢和胆固醇平衡, 以及在改善胰岛素敏感性中起重要作用, miR-185 可能成为非酒精性脂肪肝和胰岛素抵抗的新靶点和治疗非酒精性脂肪肝药物作用新靶标。

**关键词:**miR-185; 非酒精性脂肪性肝病; 脂质代谢; 胰岛素信号通路

**中图分类号:**R-33; R575.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)08-1425-06

## MicroRNA-185 Improves Insulin Sensitivity and Regulates Expression of Lipid Metabolism Genes in Mice with Non-alcoholic Fatty Liver Disease\*

YU Jun-jie<sup>1</sup>, ZHAN Xiao-rong<sup>2Δ</sup>, WANG Xiao-chen<sup>2</sup>, LI Xin-yu<sup>2</sup>, LIU Xiao-min<sup>2</sup>

(1 Endocrine Department, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Endocrine Department, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effects of microRNA-185 (miR-185) on lipid metabolism and insulin signaling pathway in human HepG2 liver cells in a high-fat diet mouse model. **Methods:** quantitative reverse transcription polymerase chain reaction was used to evaluate overexpression or inhibition of miR-185 expression in lipid synthesis related genes at mRNA levels. In addition, the critical signaling pathway components (IRS-1, IRS-2, PI3K, AKT2) and phosphorylated PI3K and AKT2 were measured by Western Blot assay after transfection of HepG2 pre-mir-185 cells. **Results:** miR-185 levels decreased in time and in response to the dose dependence of palmitic acid in HepG2 hepatocytes. With miR-185 transfected HepG2 cells significantly decreased the level of mRNA 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase of fatty acid synthase, sterol regulatory element binding protein and sterol regulatory element binding protein-1c, and inhibition of miR-185 produced the opposite effect using anti-miR-185 oligonucleotides in HepG2 cells. In a high-fat diet mouse model, miR-185 improved significantly after lipid accumulation, compared with controls. Induction of miR-185 enhances insulin signaling pathways by up regulation of the insulin receptor substrate-2. Induction of miR-185 enhances insulin signaling pathways by up regulation of the insulin receptor substrate-2. **Conclusions:** These results suggest that MiR-185 plays an important role in regulating fatty-acid metabolism and cholesterol homeostasis in hepatocytes, as well as improving insulin sensitivity in vitro and in vivo. MiR-185 may be a new target for nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance and a new drug target for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease.

**Key words:** miR-185; Nonalcoholic fatty liver disease; Lipid metabolism; Insulin signaling pathway

**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R575.5 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2018)08-1425-06

\* 基金项目: 国家自然科学基金项目(30950005)

作者简介: 于俊杰(1987-), 女, 硕士, 住院医师, 研究方向: 非酒精性脂肪肝发病机制的研究, E-mail: 195922344@qq.com

Δ 通讯作者: 詹晓蓉(1960-), 女, 博士生导师, 教授, 主要研究方向: 胰岛再生以及非酒精性脂肪肝的发病机制的研究,

E-mail: 546494151@qq.com

(收稿日期: 2017-08-23 接受日期: 2017-09-20)

胰岛素信号传导障碍和脂代谢异常是非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 的发病基础。为了研究 NAFLD 发病中影响胰岛素信号传导和脂代谢调控网络的确切分子机制, 我们利用生物信息学方法对正常小鼠、高脂喂养的非酒精性脂肪肝小鼠与敲除 ob/ob 基因的胰岛素抵抗的小鼠肝脏组织的基因芯片进行筛选, 筛选出共同差异表达基因 21 个, 随后利用 miRecords 整合数据库预测调控此 21 个共同差异表达基因的 miRNAs, 并进行排序, 发现 miR-185 调控这 21 个共同差异表达基因中的 7 个, 是调控基因数最多的 miRNA。因此, 本研究进一步检测了 miR-185 在非酒精性脂肪肝小鼠肝组织中的表达情况, 进而采用转染技术降低或提高 HepG2 细胞中 miR-185 的表达细胞, 旨在探讨 miR-185 对非酒精性脂肪肝小鼠肝脏脂代谢和胰岛素信号传导的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 HepG2 细胞的培养和转染

HepG2 细胞在含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中进行培养, 培养液包括 1% 含有青霉素 (10000 U / mL) 和链霉素 (10000  $\mu$ g/mL) 的抗生素混合物, 1% 非必需氨基酸谷氨酰胺溶液, 1% 谷氨酰胺和 5 mmol/L 葡萄糖。mir-185、对照 microRNA 和 anti-mir-185 控制反义寡核苷酸 (ASOS) 是由中国广州锐博生物科技有限公司合成; 利用脂质体转染试剂 (Invitrogen 公司, 美国) 转染 HepG2 细胞。

### 1.2 动物饲养

动物研究是由哈尔滨医科大学伦理委员会批准和实验是根据对实验动物的人道待遇, 八周龄的雄性 C57BL / 6 小鼠由哈尔滨医科大学实验室获得并安置一个 12 小时的光 / 暗周期, 允许自由饮水和实验室饲料。评估 miR-185 表达水平, C57BL / 6 小鼠随机分为两组, 正常饲料组和高脂饮食组 (30% 脂肪, 15% 的蛋白质, 45% 的碳水化合物, 1.15% 胆固醇), 分别饲养 12 周。在 4、8 周和 12 周, 肝组织标本作定量反转录聚合酶链反应 (qRT-PCR) 实验。

选择 20 只高脂饮食 12 周得八周龄雄性 C57BL / 6 小鼠。然后, 一半的小鼠 (n=10) 静脉注射 20 毫克 / 公斤的 miR-185, 另一半作为对照组 (n=10) 每周给予等量的控制 microRNA 8 周, 每周记录小鼠体重。

### 1.3 实时定量 RT-PCR

为了明确 miR-185 是否调节脂质代谢, 我们首先定量监测了软脂酸 (PA) 处理后 miR-185 表达变化情况, 分别用  $1 \times 10^4$  或  $5 \times 10^4$  mmol/L PA 处理 HepG2 细胞 24、48h 后, 采用 qRT-PCR 检测 miR-185 水平。参照说明书, 从高纯度的 RNA 分离试剂盒 (罗氏, 德国) 中分离出来自肝组织或培养细胞的总 RNA。使用 miRNA cDNA 合成试剂盒 (kr201-01, Invitrogen 公司, 美国) 合成 cDNA。使用美国应用生物系统公司的 ABI 7900HT 序列检测系统进行荧光定量 PCR 检测。

为了评估 SREBP1、SREBP2、脂肪酸合酶 (FAS)、3- 羟基 -3 甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMGCR) 的 mRNA 水平, 采用 Trizol 和 RNeasy 迷你试剂盒 (Qiagen 公司) 提取并纯化总 RNA (Invitrogen 公司, 美国) 反转录, 用 DNase I 提纯 RNA 并应用 MM-LV 逆转录酶链 cDNA 合成试剂盒 (Invitrogen 公司, 美国) 逆

录。所有的反应进行了三次, 和 RNU6-2 或  $\beta$ -actin 作为内参。用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法<sup>[1]</sup> 确定基因表达相对倍数变化。

### 1.4 HepG2 细胞脂肪酸氧化和甾醇合成率的评价

HepG2 细胞在 12 孔板中培养和转染 miR-185 (20 nmol/L)、反 -miR-185 (40 nmol/L) 和阴性对照组 (con-miR and con-anti-miR)。48 小时后, 通过  $1\text{-}^{14}\text{C}$  油酸氧化成  $^{14}\text{CO}_2$  测定脂肪酸氧化率, 如前所述 (Yu et al, 1997)。通过 [ $^{14}\text{C}$ ] 乙酸加入 HepG2 细胞固醇量确定了甾醇的合成率, 每个实验一式三份。

### 1.5 蛋白质免疫印迹反应

转染 48 小时后, 细胞在 PBS 和溶解的 300  $\mu$ L RIPA 裂解缓冲液 (solarbio、北京) 含有一种蛋白酶抑制剂混合物, 蛋白质经 SDS-PAGE 处理后转移到 PVDF 膜上。膜与 5% 的脱脂奶粉封闭一抗。用 TBS-T 洗三次后, 膜与适当的辣根过氧化物酶标记的二抗孵育 (圣克鲁斯, 美国)。

### 1.6 临床化学参数评价

血浆总胆固醇 (CHOL)、甘油三酯 (TG)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 用分光光度法测定试剂盒在最后一次注射后测定 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)。

### 1.7 腹腔胰岛素耐量试验

小鼠禁食 8 小时, 腹腔注射胰岛素 (1 U/kg), 尾静脉取血量血糖, 分别在 0, 15, 30, 60, 120 min 时测量血糖值, 制作 ITT 曲线。

### 1.8 组织学分析

为评估 miR-185 对脂肪肝的影响, 在最后一次注射 miR-185 后取小鼠肝组织, 10% 福尔马林溶液固定, 石蜡包埋。切片苏木精 - 伊红染色。

### 1.9 统计学分析

统计分析采用 SPSS 统计软件 12 版, 数据以平均  $\pm$  标准差 (SD) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两组间比较采用 t 检验, 以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 软脂酸对 HepG2 细胞中 miR-185 表达的影响

与对照组相比, miR-185 的表达经  $1 \times 10^4$  mmol/L PA ( $P < 0.01$ ) 处理 24 小时后下降了约 20%, 经  $5 \times 10^4$  mmol/L PA ( $P < 0.05$ ) 处理 24 小时后下降了约 35%, 处理 48 小时后, 与对照组相比, miR-185 表达下降约 42% ( $1 \times 10^4$  mmol/L PA,  $P < 0.01$ ) 和 60% ( $5 \times 10^4$  mmol/L PA,  $P < 0.05$ )。这些数据表明软脂酸可降低 HepG2 细胞中 miR-185 的表达。

### 2.2 miR-185 对 HepG2 肝细胞脂质代谢的影响

为了评估 miR-185 对脂质代谢的调节作用, 用 pre-miR-185 或 anti-miR-185 转染 HepG2 细胞, 测定脂肪酸氧化和甾醇的合成率。与对照组相比, 过表达 miR-185 的 HepG2 细胞甾醇合成率明显减少约 30% ( $P < 0.01$ , 图 2A), 脂肪酸氧化率增加 1.9 倍 ( $P < 0.01$ , 图 2B); 而 anti-miR-185 处理的 HepG2 细胞甾醇合成率增加 2.2 倍 ( $P < 0.01$ , 图 2C), 与对照组相比, 脂肪酸氧化率降低约 38% ( $P < 0.01$ , 图 2D)。

多项研究表明 Fas、HMGCR、SREBP2 和 SREBP1c 与脂质代谢密切相关, 因此我们在诱导或抑制 miR-185 后, 进一步检测 Fas、HMGCR、SREBP2 和 SREBP1c 的基因表达。结果显示

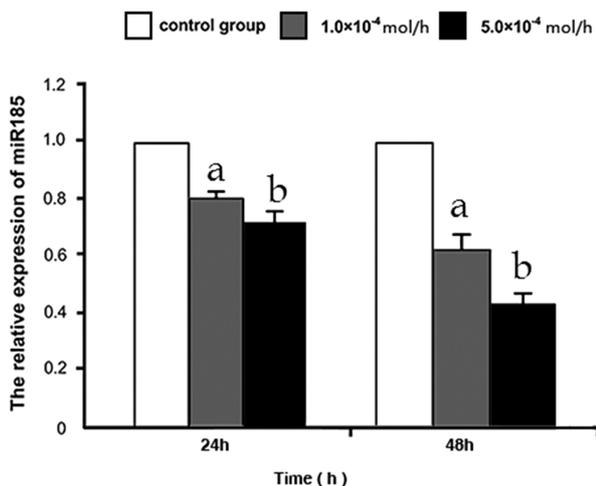


图1 软脂酸处理的 HepG2 细胞 miR-185 表达水平

Fig.1 MicroRNA-185 expression levels in palmitic acid-treated HepG2 cells

过表达 miR-185 的 HepG2 细胞 Fas, HMGCR, SREBP2、SREBP1c 的表达显著降低 ( $P < 0.05$ , 图 2E)。相反, 抑制 miR-185 的 HepG2 细胞 Fas, HMGCR, SREBP2 和 SREBP1c 的 mRNA 水平明显增加 ( $P < 0.05$ , 图 2F)。这些研究结果表明 miR-185 可能通过抑制脂肪合成基因的表达来调节脂肪酸和胆固醇平衡。

### 2.3 高脂饮食对 C57BL / 6J 小鼠 miR-185 表达的影响

正常饮食或高脂肪的饮食喂养 C57BL/6J 小鼠 12 周, 分别在 4 周、8 周和 12 周取肝组织进行实时荧光定量 PCR 实验。与正常对照组相比, 高脂肪的饮食喂养 4 周的小鼠肝组织 miR-185 表达下降约 5%, 8 周的小鼠肝组织 miR-185 表达下降约 22% ( $P < 0.01$ ), 12 周时进一步下降 (约 30%,  $P < 0.01$ )。与体外实验数据吻合, 高脂喂养组 miR-185 表达以时间依赖的方式下降 (图 3)。

### 2.4 过表达 miR-185 降低高脂饮食诱导的小鼠肝脂肪变性并改善其胰岛素敏感性

为了阐明 miR-185 对胰岛素敏感性和脂代谢的调节作用, 高脂饮食喂养 C57BL / 6 小鼠 12 周后每周腹腔注射 miR-185 (20 毫克 / 千克), 连续 8 周。结果显示在注射胰岛素 1U / kg 后所有时间点, HFD+miR-185 组小鼠血浆葡萄糖、HOMA-IR、TG、CHOL、ALT 水平均较 HFD+CON MIR 组显著降低 (图 4A, 图 4C-4F), 两组小鼠体重比较差异无统计学意义 (图 4B)。此外, HFD+CON MIR 组小鼠肝脏组织 HE 染色显示肝细胞气球样变扩大 (箭头), 而 HFD+miR-185 组小鼠肝脏脂质积累明显下降 (图 4G)。这些数据表明过表达 miR-185 可减轻高脂饮食诱导的 C57BL / 6 小鼠肝脏脂肪含量。

### 2.5 miR-185 调节体外胰岛素信号通路

为了探究 miR-185 是否调节胰岛素信号通路, 我们测定在转染 HepG2 细胞 pre-miR-185 后的关键信号通路组分 (IRS-1、IRS-2、PI3K、AKT2) 和磷酸化 PI3K 和 AKT2 的表达。如图 5A 所示, 在过表达 miR-185 的 HepG2 细胞 IRS-2、pPI3K、pAkt2 的表达较对照组均显著升高, 然而 IRS-1、PI3K、AKT2 的表达较对照组并无显著差异。这表明 miR-185 可能通过诱导 IRS-2 的表达而不是 IRS-1 促进 PI3K/AKT2 信号通路的。

### 2.6 miR-185 对胰岛素信号转导与脂质代谢的调节作用

miR-185 一方面通过上调关键因子 IRS-2, 激活磷脂酰肌醇 3- 激酶 /AKT2 信号, 增加胰岛素敏感性; 另一方面, miR-185 抑制 SREBP-1c 和 SREBP-2, 降低肝脏脂质的合成。

## 3 讨论

胰岛素抵抗是 NAFLD 发病机制的关键, 两者经常同时出现<sup>[4]</sup>。我们前期工作主要关注 NAFLD 与胰岛素抵抗之间的分子相互作用。虽然 NAFLD 的发病机制尚不完全清楚, miRNA 作为脂肪酸和胆固醇平衡的主要调节者的重要角色值得关注

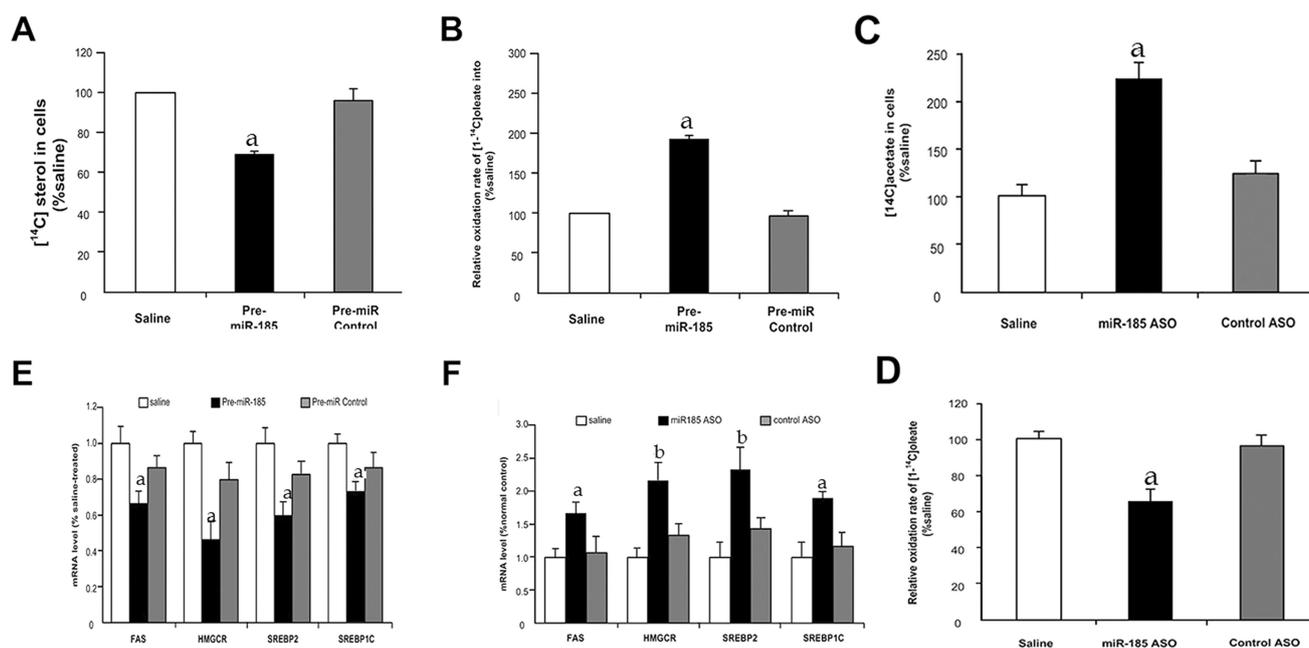


图2 miR-185 对肝细胞脂代谢的影响

Fig.2 Effect of miR-185 on the lipid metabolism in HepG2 cells

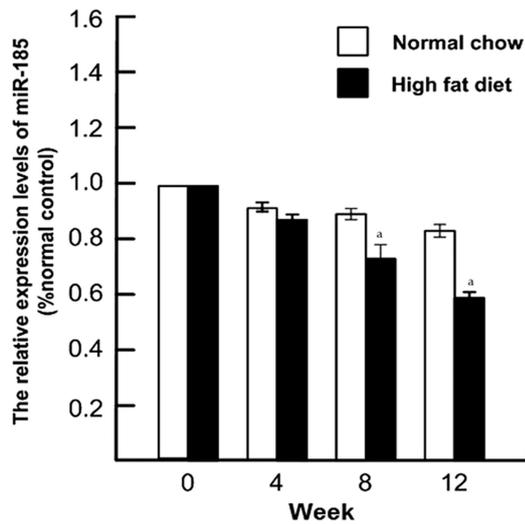


图 3 高脂喂养 C57BL/6J 小鼠肝脏组织 miR-185 的表达

Fig. 3 MicroRNA-185 expression in the liver tissue of C57BL/6J mice fed by high fat diet

[5-8]。事实上,单个 miRNA 可以通过靶向多种蛋白酶和转录因子的生物学通路调节复杂的疾病过程;越来越多的证据支持 miRNA 在调节脂质代谢和胰岛素敏感性起关键作用,例如 miR-33a 和 miR-33b 靶向参与脂肪酸氧化的关键酶 [9]。此外,miR-181d 的表达降低细胞中甘油三酯和胆固醇水平[10];过表达 miR-122 诱导成人肝脏中甘油三酯和胆固醇的合成[11];miR-126 影响肝细胞胰岛素敏感性[12]。最近有报道称,miR-185 通过直接作用于肝 B 类 I 型清道夫受体(SR-BI)3'-非翻译区(UTR)来调节胆固醇代谢和降低高密度脂蛋白的摄取[13]。

我们前期利用生物信息学预测 miR-185 可能调节 NAFLD 发病机制和胰岛素抵抗,在我们的研究中,发现 miR-185 在调节肝脏脂质代谢、胰岛素抵抗以及 NAFLD 的发展过程中的潜在作用。Wang 等人[13]最近的研究表明高脂饮食 8 周后敲除肝组织中 ApoE 基因的小鼠的 miR-185 表达水平是下降的。根据我们的研究结果显示,从第八周起高脂喂养小鼠 miR-185 表达以时间依赖的方式下降,miR-185 表达水平减少对软脂酸具有时间和剂量依赖性(图 6)。

这些研究结果表明,过表达 miR-185 有助于减少脂肪酸和胆固醇的合成,这与我们观察到的脂肪酸代谢相关基因 Fas 基

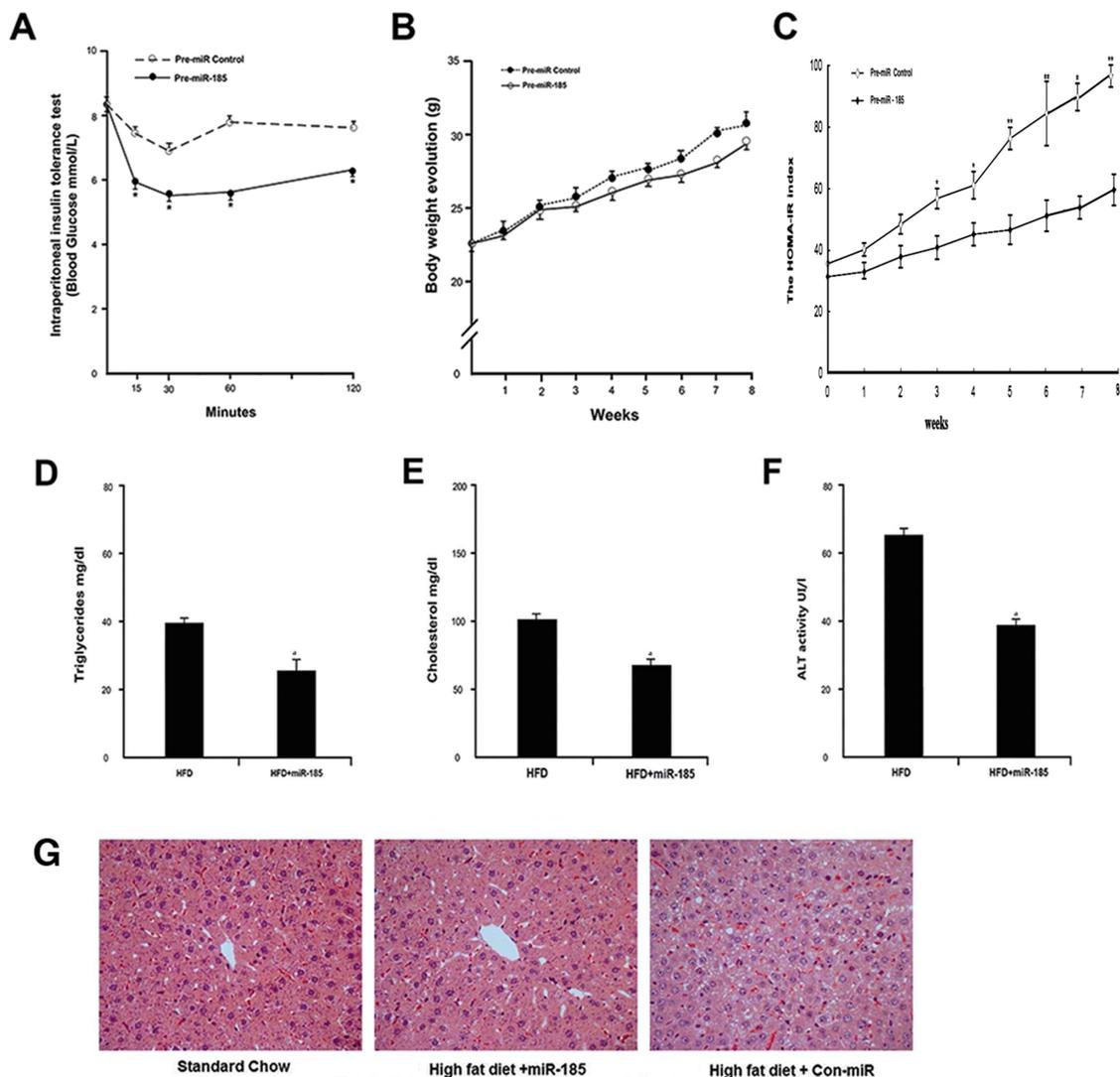


图 4 过表达 miR-185 改善胰岛素抵抗并且减少脂肪变性

Fig.4 Overexpression of microRNA-185 improves insulin sensitivity and reduces liver steatosis

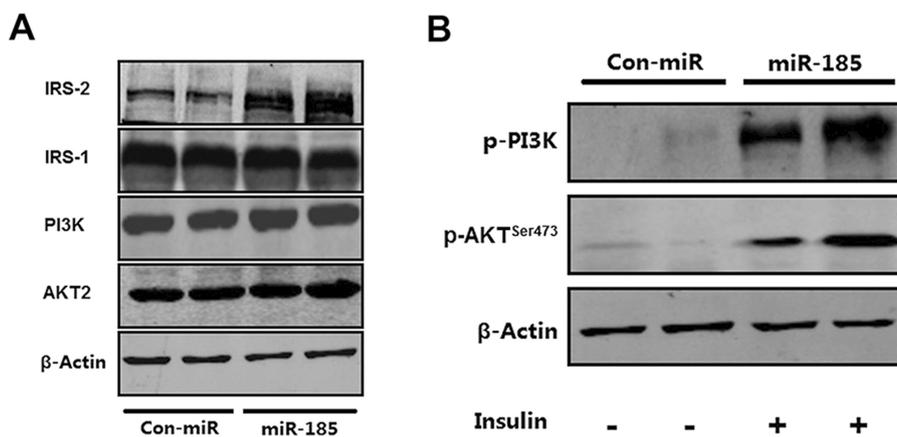


图 5 miR-185 调节肝脏胰岛素信号传导通路

Fig.5 MicroRNA-185 regulates the insulin signalling pathway in HepG2 cells

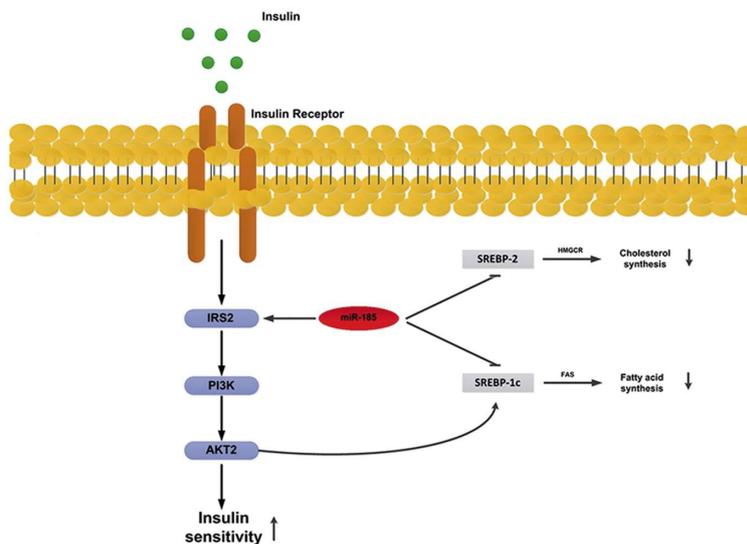


图 6 miR-185 对胰岛素信号转导与脂质代谢的调节作用

Fig.6 Role of microRNA-185 in the regulation of insulin signalling transduction and lipid metabolism

因，多个胆固醇代谢相关基因（包括 HMGCR, SREBP-2 和 SREBP-1c)mRNA 的表达水平减少相一致。抑制 HepG2 细胞中 miR-185 促进脂肪酸和胆固醇的生物合成，伴随着这些关键的脂肪生成基因的 mRNA 表达水平升高。同样，李等人<sup>[14]</sup>发现 miR-185 通过直接结合他们的 3'UTRs 调控 SREBP-1、SREBP-2 基因表达来抑制前列腺癌细胞中的胆固醇和脂肪酸的生物合成。与之相一致的是，杨等人<sup>[15]</sup>表明，miR-185 转录后抑制 SREBP-2 表达。然而，经过 miR185 处理 HepG2 细胞后 HMGCR 表达无显著变化<sup>[15]</sup>。这种差异可能是由于他们与我们的实验条件不同所导致的。

SREBP-1 调控参与脂肪酸生物合成的基因，而 SREBP-2 主要调节胆固醇代谢<sup>[16,17]</sup>他们经常作为关键调节因子诱导脂质相关基因的转录，包括 FASN, FDFT1 和 HMGCR，导致脂肪酸和胆固醇的生物合成增加<sup>[18-20]</sup>。我们的动物模型提供了强有力的证据表明，miR-185 通过抑制脂肪合成基因的表达来调节脂肪酸和胆固醇平衡，miR-185 可能影响肝脏细胞的脂肪酸和胆固醇的代谢，至少部分通过抑制 SREBP-1、SREBP-2 mRNA 的表达。

miR-185 明显改善胰岛素抵抗。以前的研究没有报道

miR-185 调节胰岛素信号通路。有趣的是，Vickers 等人<sup>[12]</sup>研究表明过表达 miR-126 通过直接作用于肝细胞 IRS-1 mRNA 引起胰岛素抵抗。同样的，Karolina 等人<sup>[21]</sup>发现 miR-144 直接抑制 IRS1 的 mRNA 和蛋白表达水平。如上图所示，过表达 miR-185 增强肝细胞 IRS-2 的表达，并且胰岛素刺激其下游的激酶 PI3K、AKT2 的表达。我们发现经过 miR-185 治疗后的高脂喂养动物的胰岛素敏感性被显著改善。虽然如上图所示 miR-185 影响 IRS-2 蛋白的表达，但它不可能通过与基因 3-UTR 相互作用直接调节 IRS-2，因为 IRS-2 缺乏与 miR-185 结合序列。一种可能性是，目标基因 miR-185 通过作用于别的基因反过来调节 IRS-2；这个假设值得进一步探索。

综上所述，miR-185 在调节肝细胞中脂肪酸代谢和胆固醇的动态平衡以及提高胰岛素的敏感性起着重要的作用，推测 miR-185 可能是非酒精性脂肪肝和胰岛素抵抗的发病过程中的关键基因，可以作为治疗非酒精性脂肪肝与胰岛素抵抗一个潜在分子靶点。

参考文献(References)

[1] Berk P D, Verna E C. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Lipids and Insulin Resistance[J]. Clinics in liver disease, 2016, 20(2): 245

- [2] Portillo P, Yavuz S, Bril F, et al. Role of Insulin Resistance and Diabetes in the Pathogenesis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease[J]. *Current Hepatology Reports*, 2014, 13(2): 159-170
- [3] Yang H R, Chang E J. Insulin resistance, body composition, and fat distribution in obese children with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 2016, 25(1): 126-133
- [4] Mohamed A A, Shousha W G, Shaker O, et al. Insulin resistance in Egyptian nonalcoholic fatty liver disease patients [J]. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 2015, 6(5): 463-473
- [5] Melnik B C. The Pathogenic Role of Persistent Milk Signaling in mTORC1- and Milk-MicroRNA-Driven Type 2 Diabetes Mellitus[J]. *Current Diabetes Reviews*, 2015, 11(1): 46-62
- [6] Jiang X, Yang L, Pang L, et al. Expression of obesity related miR 1908 in human adipocytes is regulated by adipokines, free fatty acids and hormones[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2014, 10(2): 1164
- [7] Aranda J F, Madrigal-Matute J, Rotllan N, et al. MicroRNA modulation of lipid metabolism and oxidative stress in cardiometabolic diseases[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2013, 64(6): 31-39
- [8] Y K Adlakha, S Khanna, R Singh, et al. Pro-apoptotic miRNA-128-2 modulates ABCA1, ABCG1 and RXR $\alpha$  expression and cholesterol homeostasis[J]. *Cell Death & Disease*, 2013, 4(8): e780
- [9] Goedeke L, Vales-Lara F M, Fenstermaker M, et al. A regulatory role for microRNA 33\* in controlling lipid metabolism gene expression [J]. *Molecular and cellular biology*, 2013, 33(11): 2339-2352
- [10] Gerhard G S, DiStefano J K. Micro RNAs in the development of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *World journal of hepatology*, 2015, 7(2): 226
- [11] Su D, Zhang R, Hou F, et al. Lychee pulp phenolics ameliorate hepatic lipid accumulation by reducing miR-33 and miR-122 expression in mice fed a high-fat diet[J]. *Food & function*, 2017, 8(2): 808-815
- [12] Vickers K C, Rye K A, Tabet F. microRNAs in the onset and development of cardiovascular disease[J]. *Clinical Science*, 2014, 126(3): 183-194
- [13] Wang L, Jia X J, Jiang H J, et al. MicroRNAs 185, 96, and 223 Repress Selective High-Density Lipoprotein Cholesterol Uptake through Posttranscriptional Inhibition [J]. *Molecular & Cellular Biology*, 2013, 33(10): 1956-1964
- [14] Li X, Chen Y T, Jossion S, et al. MicroRNA-185 and 342 Inhibit Tumorigenicity and Induce Apoptosis through Blockade of the SREBP Metabolic Pathway in Prostate Cancer Cells [J]. *Plos One*, 2013, 8(8): e70987
- [15] Yang M, Liu W, Pellicane C, et al. Identification of miR-185 as a regulator of de novo cholesterol biosynthesis and low density lipoprotein uptake[J]. *Journal of Lipid Research*, 2014, 55(2): 226-238
- [16] Haskins J W, Zhang S, Means R E, et al. Neuregulin-activated ERBB4 induces the SREBP-2 cholesterol biosynthetic pathway and increases low-density lipoprotein uptake [J]. *Science signaling*, 2015, 8(401): ra111
- [17] Rong S, Cortés V A, Rashid S, et al. Expression of SREBP-1c requires SREBP-2-mediated generation of a sterol ligand for LXR in livers of mice[J]. *eLife*, 2017, 6
- [18] Oishi Y, Spann N J, Link V M, et al. SREBP1 contributes to resolution of pro-inflammatory TLR4 signaling by reprogramming fatty acid metabolism[J]. *Cell metabolism*, 2017, 25(2): 412-427
- [19] Morioka S, Sai K, Omori E, et al. TAK1 regulates hepatic lipid homeostasis through SREBP[J]. *Oncogene*, 2016, 35(29): 3829
- [20] Zimmer M, Bista P, Benson E L, et al. CAT 2003: A novel sterol regulatory element binding protein inhibitor that reduces steatohepatitis, plasma lipids, and atherosclerosis in apolipoprotein E\* 3 Leiden mice[J]. *Hepatology Communications*, 2017
- [21] Karolina DS, Armugam A, Tavintharan S, et al. MicroRNA 144 Impairs Insulin Signaling by Inhibiting the Expression of Insulin Receptor Substrate 1 in Type 2 Diabetes Mellitus [J]. *Navarro A, ed. PLoS ONE*, 2011, 6(8): e22839