DOI:10.16016/j.1000-5404.201409035

论著

内质网应激通过SCAP/SREBP-1c调控L02肝细胞脂质合成代谢

刘 佳,李传飞,宁 波,杨朝霞 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院消化内科)

[摘要] **目的** 在内质网应激状态下,观察SCAP/SREBP-1c对肝细胞脂质合成代谢的影响。**方法** 用毒胡萝卜素(Tg)诱导人L02正常肝细胞株建立内质网应激模型,Western blot检测GRP78的蛋白表达。甘油三酯(TG)试剂盒和油红O染色检测肝细胞内脂变程度;实时荧光定量PCR检测SREBP-1c下游脂代谢相关基因FAS、ACC1的mRNA表达情况,Western blot检测nSREBP-1c、FAS、ACC1的蛋白表达情况。通过miRNA瞬时转染沉默SCAP基因的表达,观察上述指标的变化情况。**结果** 实验组GRP78蛋白的相对表达量与对照组比较,均显著增加($P<0.05$),Tg在体外成功建立肝细胞内质网应激模型。与空白对照组相比,Tg组肝细胞内甘油三酯含量明显增加($P<0.05$),脂滴明显增多;nSREBP-1c的蛋白水平明显升高($P<0.05$);下游靶基因FAS和ACC1的基因和蛋白水平均明显上调($P<0.05$),与nSREBP-1c的升高趋势一致。转染SCAP-3 miRNA载体后,以上指标均明显下调($P<0.05$)。**结论** 内质网应激通过SCAP/SREBP-1c调控肝细胞脂质合成代谢,促进脂质沉积,是NAFLD重要的发病机制之一。靶向干扰SCAP,能减轻内质网应激所致的肝细胞脂肪变程度,成为安全有效的NAFLD防治新靶点。

[关键词] 非酒精性脂肪肝;内质网应激;SCAP;RNA干扰;SREBP-1c
[中图法分类号] Q591.5; R322.47; R329.26 [文献标志码] A

Endoplasmic reticulum stress regulates lipid synthesis metabolism in L02 hepatocytes through SCAP/SREBP-1c

Liu Jia, Li Chuanfei, Ning Bo, Yang Zhaoxia (Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of SREBP cleavage-activating protein/sterol regulatory element binding protein-1c (SCAP/SREBP-1c) on the lipid synthesis metabolism in hepatocytes under endoplasmic reticulum stress (ERS). **Methods** An endoplasmic reticulum stress model of human L02 hepatocytes was induced by thapsigargin (Tg). Western blotting was used to determine the expression of GRP78. Lipid deposition was detected by triglyceride kit and Oil Red O staining. Real-time quantitative PCR was used to test the expression of ACC1 and FAS at mRNA level, and Western blotting was also applied to measure the protein levels of nSREBP-1c, FAS and ACC1. **Results** Western blot analysis showed that GRP78 protein in the experimental group was remarkably higher than that in the control group ($P<0.05$), indicating the successful establishment of the ERS model. In Tg group, triglyceride content and lipid droplet were apparently increased ($P<0.05$), and the nSREBP-1c protein expression was up-regulated ($P<0.05$) and the mRNA and protein levels of FAS and ACC1 were also increased, consistent with the trend of nSREBP-1c protein ($P<0.05$). In SCAP interference group, the above indicators were significantly down-regulated

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(81000357)
[通信作者] 宁 波,电话:(023)63693325,E-mail:ningbo.bo@163.com
杨朝霞,电话:(023)63693325,E-mail:yangzhx2003@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141205.1530.077.html(2014-12-05)

($P < 0.05$). **Conclusion** ERS regulates lipid synthesis metabolism in L02 hepatocytes through SCAP/SREBP-1c, and promotes lipid deposition, which may be important in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Silencing the gene expression of SCAP can reduce the degree of fatty degeneration which was induced by ERS, and can be a safe and effective new target for prevention and treatment of NAFLD.

[**Key words**] non-alcoholic fatty liver disease; endoplasmic reticulum stress; SREBP cleavage-activating protein; RNA interference; sterol regulatory element binding protein-1c

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81000357). Corresponding author: Ning Bo, E-mail: ningbo.bo@163.com; Yang Zhaoxia, E-mail: yangzhx2003@163.com

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease,NAFLD)与肥胖、2型糖尿病和心脑血管疾病等密切相关,是代谢综合征在肝脏的表现,主要的病理改变是肝细胞内异常堆积的甘油三酯。2014年第49届欧洲肝脏研究学会年会再次强调,NAFLD已成为国内外慢性肝病愈来愈重要的病因,严重危害公众健康,是当代医学领域的新挑战。NAFLD的发病机制尚未完全清楚,治疗方法也很局限。近年来内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)在调节肝脏疾病(病毒性肝炎、酒精性肝损伤、肝癌等)中的研究十分广泛[1],而且有学者发现NAFLD的发生和发展中也有ERS的参与[2-4]。我们前期研究发现,ERS通过上调SREBP-1c(sterol regulatory element binding protein-1c)诱导肝细胞脂肪沉积[5]。固醇调节元件结合蛋白裂解激活蛋白(SREBP cleavage-activating protein,SCAP)是位于内质网上的膜蛋白,主要功能是负责转运SREBP-1c至高尔基体进行水解激活,释放出活性片段进入核内发挥作用。本研究用毒胡萝卜素构建肝细胞ERS模型,通过甘油三酯和油红染色了解脂肪变程度,利用Western blot、qPCR等检测SREBP-1c及其下游脂代谢相关基因FAS、ACC1的表达。通过miRNA瞬转干扰SCAP基因的表达,研究上述指标的变化,探讨内质网应激状态下SCAP/SREBP-1c对肝细胞脂质合成代谢的影响及具体机制,为NAFLD的防治提供新的思路和靶点。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和细胞

胎牛血清(杭州四季青公司);RPMI1640培养基(HyClone公司);毒胡萝卜素、油红O染色剂(Sigma公司);甘油三酯检测试剂盒(长春汇力公司);pcDNA6.2-GW/EmGFP-miR质粒(上海Invitrogen公司);质粒小量提取试剂盒(Omega公司);Poly Jet™转染试剂(SignaGen公司);高纯总RNA快速抽提试剂盒(北京百泰克公司);实时荧光定量PCR试剂盒(TaKaRa公司);β-actin、FAS、ACC1引物(上海生工公司);全蛋白、核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒(南京凯基公司);兔抗GRP78、ACC1单克隆抗体(Epitomics公司),羊抗SCAP、兔抗SREBP-1c、兔抗FAS多克隆抗体(Santa Cruz公司)。L02肝细胞由重庆医科大学肝病研究所提供。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养及内质网应激模型的构建

1.2.1.1 细胞培养及分组 将L02肝细胞用含10%胎牛血清、1%青链双抗的RPMI1640培养基进行传代培养。实验分组:正常对照组(培养液中不加药物)和实验组(根据前期实验[5],培养液中加入1 μmol/L毒胡萝卜素,分别作用12、24、48 h)。

1.2.1.2 Western blot检测各组肝细胞GRP78的蛋白表达情况 预冷PBS洗涤细胞3次,提取各组细胞全蛋白,BCA测定蛋白浓度。经SDS-PAGE电泳后,转移至PVDF膜上,封闭1 h,加入兔抗GRP78(1∶2 000)抗体4 ℃孵育过夜,再加辣根过氧化酶HRP标记的鼠抗兔二抗(1∶5 000)37 ℃孵育1 h,ECL发光显影。Quantity One软件分析光密度值,GRP78的光密度值与内参β-actin相比,计算GRP78的相对表达量。

1.2.2 SCAP干扰质粒的构建及筛选

授权Invitrogen(上海)公司针对人SCAP基因(ID:22937)设计干扰序列并合成一套miRNA干扰载体,包含3个miRNA oligos以及阴性对照序列oligo。实验分空白对照组(未转染质粒);阴性对照组(转染阴性质粒);实验组:(分别转染SCAP-1miRNA、SCAP-2miRNA和SCAP-3miRNA质粒)。提取各组肝细胞的全蛋白,经电泳、转膜、封闭后,加入羊抗SCAP(1∶500)抗体4 ℃过夜,再孵育二抗,ECL显影。Quantity One分析光密度值,以β-actin为内参照,计算SCAP的相对表达量。

1.2.3 检测细胞内甘油三酯(TG)含量

实验分空白对照组、毒胡萝卜素处理组、转染阴性质粒+毒胡萝

卜素处理组、转染 SCAP-3 miRNA 干扰质粒 + 毒胡萝卜素处理组。根据前期实验[5]，毒胡萝卜素的作用浓度为 1 μmol/L，时间为 48 h。反复冻融裂解细胞，14 000 r/min 离心 15 min，取上清按照试剂盒说明操作，酶标仪测光密度值，计算每毫克蛋白质对应的 TG 含量(μg/mg)。

1.2.4　油红 O 染色检测细胞内脂滴　　分组同上，PBS 漂洗，4% 多聚甲醛固定 40 min，油红 O 染色 37 ℃ 1 h，60% 异丙醇脱色 10 s，苏木精复染细胞核 10 s，水封片后在显微镜下观察细胞内红色脂滴情况并采集图像。

1.2.5　实时荧光定量 PCR 法检测 FAS、ACC1 的 mRNA 表达　　分组同上，提取细胞总 RNA，反转录为 cDNA。FAS 上游引物：5′-CAGAGTCGGAGAACTTGCAG-3′，下游引物：5′-GGAGGCATCAAACCTAGACAG-3′；ACC1 上游引物：5′-GAGGGAAGGGAATTAGAAAA-3′，下游引物：5′-CTTGAACCTGTCTGAAGAG-3′；β-actin 上游引物：5′-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3′，下游引物：5′-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3′。PCR 条件均为：95 ℃ 1 min，95 ℃ 10 s，55 ℃ 40 s，共 40 个循环。每组设 3 个复孔，65 ~ 95 ℃，每 5 s 升高 0.5 ℃，并收集荧光信号作溶解曲线。用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 方法计算各组 FAS、ACC1 的 mRNA 相对表达量。

1.2.6　Western blot 检测 nSREBP-1c、FAS、ACC1 的蛋白表达　　分组同上，根据蛋白提取试剂盒说明书步骤提取各组细胞蛋白，定量保存。nSREBP-1c、FAS、ACC1 分别采用核蛋白、全蛋白和全蛋白进行检测。电泳、转膜、封闭后，分别加入兔抗 SREBP-1c(1∶200)、兔抗 FAS 抗体(1∶1 000)和兔抗 ACC1(1∶2 000)，经一抗二抗孵育后 ECL 显影。Quantity One 分析光密度值，计算 nSREBP-1c、FAS 和 ACC1 的相对表达量。

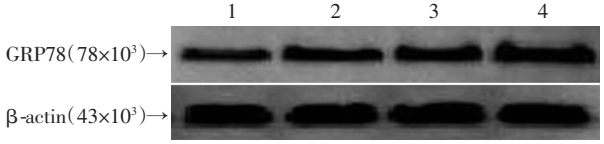
1.3　统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 17.0 统计软件进行处理，多个样本均数的比较采用单因素方差分析，两个样本均数的比较采用 t 检验。

2　结果

2.1　内质网应激模型的建立

毒胡萝卜素(1 μmol/L)处理肝细胞 0、12、24、48 h 后，实验组 12、24、48 h 肝细胞中 GRP78 相对表达量依次为(0.26 ± 0.02)、(0.43 ± 0.02)和(0.73 ± 0.02)，均较对照组 0 h(0.17 ± 0.02)显著增加，差异均有统计学意义($P < 0.05$，图 1)，说明 Tg 刺激后的肝细胞发生了明显的 ERS，且有时间依赖性，即内质网应激模型构建成功。

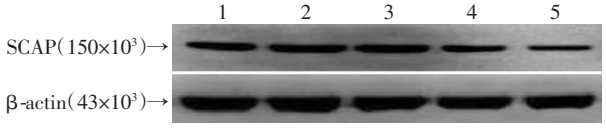


1 ~ 4：分别为毒胡萝卜素处理 L02 肝细胞 0、12、24、48 h

图 1　Western blot 检测各组 L02 肝细胞 GRP78 蛋白的表达

2.2　Western blot 检测 SCAP-miRNA 对 SCAP 蛋白表达的影响

与空白对照组的 SCAP 相对表达量(0.61 ± 0.03)比较，阴性对照组(0.63 ± 0.03)差异无显著性($P > 0.05$)，而转染 SCAP-3miRNA(0.09 ± 0.01)对 SCAP 蛋白表达的抑制作用最明显($P < 0.05$)，因此在后续的实验中我们选用 SCAP-3miRNA。各组 SCAP 蛋白表达见图 2。



1：空白对照组；2：阴性质粒对照组；3：SCAP-1miRNA；4：SCAP-2miRNA；5：SCAP-3miRNA

图 2　Western blot 检测各组 L02 肝细胞 SCAP 蛋白的表达

2.3　SCAP-3miRNA 对 ERS 状态下 L02 肝细胞甘油三酯含量的影响

Tg 组和空白对照组相比，L02 肝细胞内甘油三酯含量明显增加($P < 0.05$)，表明 ERS 可诱导肝细胞脂肪变性。与 Tg 组相比较，阴性质粒组的甘油三酯水平并没有明显改变($P > 0.05$)；而 SCAP 干扰质粒组的甘油三酯水平明显降低($P < 0.05$)。说明干扰 SCAP 基因的表达，明显减少了肝细胞的甘油三酯合成，改善了 ERS 引起的脂肪变。各组肝细胞甘油三酯含量见表 1。

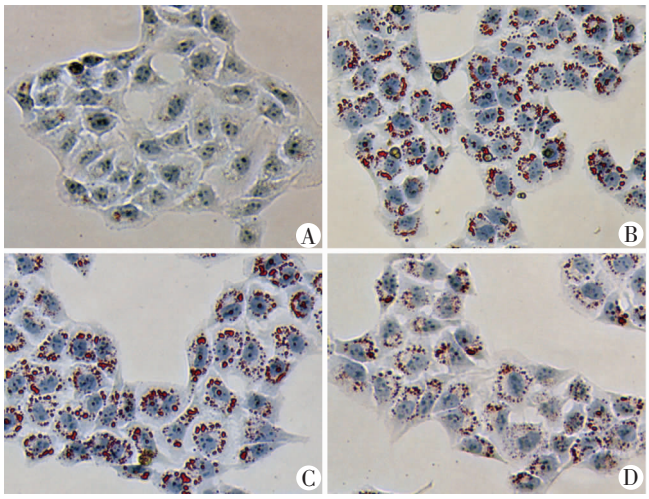
表 1　各组 L02 肝细胞内甘油三酯含量(μg/mg，$n = 3$，$\bar{x} \pm s$)

组别	L02 细胞
空白对照组	23.44 ± 1.63
Tg 组	39.35 ± 1.71[a]
SCAP 阴性质粒 + Tg 组	41.11 ± 2.41
SCAP 干扰质粒 + Tg 组	28.12 ± 1.29[b]

a：$P < 0.05$，与空白对照组比较；b：$P < 0.05$，与 Tg 组比较

2.4　SCAP-3miRNA 对 ERS 状态下 L02 肝细胞内脂滴的影响

Tg 组与空白对照组相比较，L02 肝细胞内可见大量红色脂滴，并伴有脂滴融合现象，进一步说明我们的 ERS 模型诱导了肝细胞脂肪变性。与 Tg 组相比较，阴性质粒组细胞内脂滴未见明显减少，而 SCAP 干扰质粒组细胞内仅见少量红色脂滴，说明干扰 SCAP 明显减轻了 ERS 所致的脂肪沉积(图 3)。

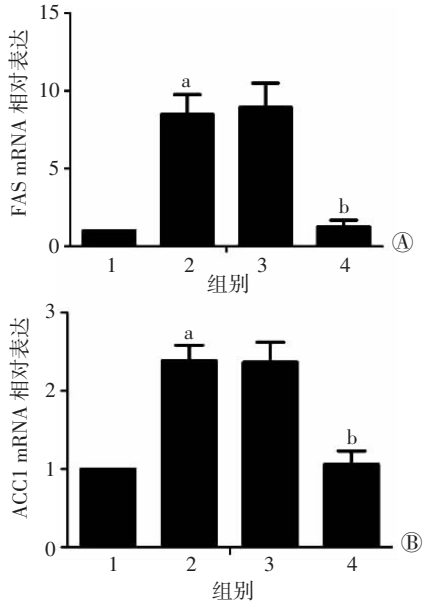


A:空白对照组;B:Tg组;C:阴性质粒+Tg组;D:干扰质粒+Tg组

图3 油红O染色观察各组L02肝细胞内脂滴变化 (×200)

2.5 SCAP-3miRNA对ERS状态下L02肝细胞内SREBP-1c下游脂代谢相关基因FAS、ACC1 mRNA表达的影响

在mRNA水平,以空白对照组的表达为1,经Tg处理48 h后,L02肝细胞的FAS、ACC1的相对表达量明显增加($P<0.05$)。与Tg组相比较,转染阴性质粒后,两者并没有明显改变($P>0.05$);而转染SCAP-3miRNA干扰质粒后,两者均明显减少($P<0.05$)。见图4。以上结果提示了ERS上调SREBP-1c下游的脂代谢相关基因FAS、ACC1的mRNA表达水平,而且SCAP-3miRNA能下调ERS所致的以上指标的变化。



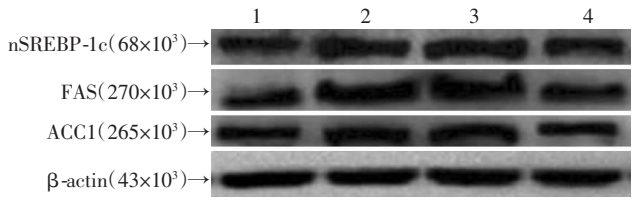
1:空白对照组;2:Tg组;3:阴性质粒+Tg组;4:干扰质粒+Tg组

a:$P<0.05$,与空白对照组比较;b:$P<0.05$,与Tg组比较

图4 实时荧光定量PCR法检测各组L02肝细胞FAS(A)、ACC1(B)的mRNA表达

2.6 SCAP-3miRNA对ERS状态下L02肝细胞内nSREBP-1c、FAS、ACC1蛋白表达的影响

在蛋白水平,Tg组与对照组相比,L02肝细胞nSREBP-1c蛋白的表达明显升高($P<0.05$);转染SCAP干扰质粒后,nSREBP-1c蛋白的表达明显降低($P<0.05$),而阴性质粒转染组并没有明显降低($P>0.05$)。同时,我们检测了各组肝细胞FAS、ACC1蛋白的表达情况,发现Tg组FAS、ACC1表达显著上调($P<0.05$),在转染后亦明显降低($P<0.05$),阴性质粒组均无明显改变($P>0.05$),与nSREBP-1c蛋白趋势一致(图5,表2)。结果证实,干扰SCAP,不仅能抑制ERS状态所引起的nSREBP-1c蛋白的表达增多,而且能够下调其下游的脂代谢相关基因FAS、ACC1的蛋白水平。



1:空白对照组;2:Tg组;3:阴性质粒+Tg组;4:干扰质粒+Tg组

图5 Western blot检测各组L02肝细胞内nSREBP-1c、FAS、ACC1的蛋白表达

表2 各组细胞内nSREBP-1c、FAS、ACC1的蛋白表达($\bar{x}\pm s$)

组别	nSREBP-1c	FAS	ACC1
空白对照组	0.28±0.02	0.36±0.02	0.42±0.02
Tg组	0.54±0.02[a]	0.97±0.02[a]	0.78±0.04[a]
SCAP阴性质粒+Tg组	0.54±0.02	0.98±0.02	0.80±0.05
SCAP干扰质粒+Tg组	0.28±0.01[b]	0.45±0.03[b]	0.56±0.03[b]

a:$P<0.05$,与空白对照组比较;b:$P<0.05$,与Tg组比较

3 讨论

内质网(endoplasmic reticulum,ER)是真核细胞内重要的细胞器,专门负责蛋白质的合成和翻译后修饰,脂质的合成和维持细胞内钙离子稳态。在多种生理或病理条件(低氧、能量代谢障碍、病毒感染、错误折叠蛋白积聚等)下,细胞的内质网折叠蛋白质的能力受损、钙离子存储不足,会启动自我保护反应机制——内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ER stress)。早期研究ERS,主要集中在未折叠蛋白反应(unfolded protein response,UPR)通路[6-7]。ER处于应激状态时,ER膜上的葡萄糖调节蛋白78(glucose regulated protein78,GRP78)与PERK(protein kinase RNA-like ER kinase)、IRE1(inositol-requiring enzyme-1)和ATF6

(activating transcription factor-6)解离,传递UPR信号,分别通过以上3种跨膜蛋白介导激活相应的反应来恢复细胞稳态及机体功能。早期文献报道ERS与糖尿病、神经系统变性疾病、中毒性损伤等疾病相关,近年来,越来越多的研究表明,ERS与NAFLD密切相关。在NAFLD患者的脂肪组织检测到ERS的存在[8]。在不同处理因素诱导的NAFLD动物和细胞模型中均发现有ERS的参与[9-12]。为了进一步探讨ERS和NAFLD的直接关系,即ERS是否直接导致脂肪变,我们用内质网应激诱导剂毒胡萝卜素刺激人正常肝细胞株L02,构建ERS模型,在该模型中观察脂质代谢及相关基因的表达变化情况。

毒胡萝卜素(thapsigargin,Tg)是内质网Ca^{2+} ATP酶抑制剂,使内质网储存的Ca^{2+}减少,胞浆中的Ca^{2+}浓度升高,钙稳态失衡,引起ERS[13]。GRP78在ERS时表达明显上调,是ERS的标志蛋白[9]。本研究结果表明Tg刺激后的肝细胞发生了明显的ERS,且具有时间依赖性。Tg组的甘油三酯和油红O染色分别从定量和定性的角度证实Tg诱导肝细胞发生了脂肪变性。许多学者的研究表明NAFLD模型中有ERS的参与,但是本研究进一步发现,ERS可直接诱导肝细胞发生脂肪变性。

SREBPs是维持肝细胞脂质稳态的重要因子,其中,SREBP-2主要参与胆固醇代谢的调控,SREBP-1c主要调节脂肪酸的合成[14]。人脂肪肝组织中,SREBP-1c的表达是正常对照组的5倍[15]。SREBP-1c与ER膜结合的那部分是前体蛋白(125×10^3),转运至高尔基体之后,经过2次蛋白水解,释放出具有转录活性的小片段,即nSREBP-1c(68×10^3)[16]。本研究结果显示L02正常肝细胞Tg组的nSREBP-1c的表达较空白对照组明显增多,说明在ERS状态下,SREBP-1c转录活性增强。此结果,在胰腺β细胞、C57Bl/6J小鼠、Huh7和HepG2肝癌细胞也得到证实[17-20]。脂肪酸合成酶(fatty acid synthase,FAS)催化脂肪酸合成的最后一步,是重要的限速酶;乙酰辅酶A羧化酶(acetyl-CoAcarboxylase,ACC1)催化乙酰辅酶A合成重要的中间代谢产物丙二酰辅酶A[15]。FAS、ACC1在肝细胞都是高表达,也是脂质合成代谢所必需的酶,有研究表明FAS或ACC1缺乏的小鼠在胚胎时期就会死亡[21-22]。本研究从基因和蛋白水平观察到,Tg组的FAS、ACC1表达明显增加,和nSREBP-1c的升高趋势一致,说明脂质合成相关基因FAS、ACC1是nSREBP-1c的靶基因,在内质网应激状态下,SREBP-1c转录活性增强,通过上调FAS、ACC1的表达,增加脂肪酸和甘油三酯的合成。

ERS如何通过激活SREBP-1c促进脂质合成代谢,其内在的机制仍不明确。SCAP是ER上的膜蛋白,其COOH-末端区有5个WD家族特征性的重复序列,和SREBP的COOH-末端调节区交互作用,紧密结合形成复合物[23]。细胞内缺乏胆固醇的时候,SCAP/SREBP复合物就以囊泡的形式从内质网膜出芽,转位至高尔基体[23],说明SCAP对SREBPs的水解激活至关重要。特异性敲除小鼠肝脏的SCAP基因,其胆固醇和脂肪酸合成水平下降了80%[24]。在高脂或蔗糖饮食诱导的脂肪肝动物模型中,基因敲除或沉默SCAP可缓解脂肪肝[25]。然而对于内质网应激状态下,干扰SCAP的表达能否改善肝细胞脂变,目前研究甚少。本研究结果显示,沉默SCAP的表达能够改善内质网应激所致的脂质沉积。而且和Tg组相比较,SCAP干扰组的nSREBP-1c明显下调,FAS、ACC1亦下调,与nSREBP-1c趋势一致。以上结果说明SCAP基因沉默是通过抑制SCAP特有的转运功能,导致能够启动脂质合成反应的nSREBP-1c减少,最终降低了ERS模型肝细胞内的甘油三酯水平,减少了脂滴形成,改善了ERS所致的脂质沉积。换言之,在ERS状态下,SCAP对SREBP-1c的激活起着"开关"调控作用。

综上所述,本研究进一步证实内质网应激与脂质沉积的直接关系。我们认为ERS是通过SCAP/SREBP-1c复合物调控肝细胞的脂质合成代谢,促进脂质沉积,是NAFLD重要的发病机制之一。SCAP因其独特的转运功能,可成为安全有效的NAFLD防治新靶点。

参考文献:

[1] Malhi H, Kaufman R J. Endoplasmic reticulum stress in liver disease[J]. J Hepatol, 2011, 54(4): 795-809.

[2] Zhang X Q, Xu C F, Yu C H, *et al*. Role of endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(7): 1768-1776.

[3] Jung T W, Hwang H J, Hong H C, *et al*. Resolvin D1 reduces ER stress-induced apoptosis and triglyceride accumulation through JNK pathway in HepG2 cells[J]. Mol Cell Endocrinol, 2014, 391(1/2): 30-40.

[4] Shin J, He M, Liu Y, *et al*. SIRT7 represses Myc activity to suppress ER stress and prevent fatty liver disease[J]. Cell Rep, 2013, 5(3): 654-665.

[5] 万颖，房殿亮，沈薇，等.内质网应激诱导肝细胞脂肪沉积及可能机制[J].第二军医大学学报，2012，33(10)：1055－1059.

[6] Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(7): 519－529.

[7] Hetz C. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(2): 89－102.

[8] Boden G, Duan X, Homko C, *et al*. Increase in endoplasmic reticulum stress-related proteins and genes in adipose tissue of obese, insulin-resistant individuals[J]. Diabetes, 2008, 57(9): 2438－2444.

[9] Cao J, Dai D L, Yao L, *et al*. Saturated fatty acid induction of endoplasmic reticulum stress and apoptosis in human liver cells *via* the PERK/ATF4/CHOP signaling pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2012, 364(1/2): 115－129.

[10] Yang L, Jhaveri R, Huang J, *et al*. Endoplasmic reticulum stress, hepatocyte CD1d and NKT cell abnormalities in murine fatty livers[J]. Lab Invest, 2007, 87(9): 927－937.

[11] Rahman S M, Schroeder-Gloeckler J M, Janssen R C, *et al*. CCAAT/enhancing binding protein beta deletion in mice attenuates inflammation, endoplasmic reticulum stress, and lipid accumulation in diet-induced nonalcoholic steatohepatitis[J]. Hepatology, 2007, 45(5): 1108－1117.

[12] Zhang C, Chen X, Zhu R M, *et al*. Endoplasmic reticulum stress is involved in hepatic SREBP-1c activation and lipid accumulation in fructose-fed mice[J]. Toxicol Lett, 2012, 212(3): 229－240.

[13] Chien C S, Ma K H, Lee H S, *et al*. Dual effect of capsaicin on cell death in human osteosarcoma G292 cells[J]. Eur J Pharmacol, 2013, 718(1/3): 350－360.

[14] Jeon T I, Osborne T F. SREBPs: metabolic integrators in physiology and metabolism[J]. Trends Endocrinol Metab, 2012, 23(2): 65－72.

[15] Musso G, Gambino R, Cassader M. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. Prog Lipid Res, 2009, 48(1): 1－26.

[16] Boden G, Salehi S, Cheung P, *et al*. Comparison of in vivo effects of insulin on SREBP-1c activation and INSIG-1/2 in rat liver and human and rat adipose tissue[J]. Obesity (Silver Spring), 2013, 21(6): 1208－1214.

[17] Oh Y S, Lee Y J, Kang Y, *et al*. Exendin-4 inhibits glucolipotoxic ER stress in pancreatic β cells *via* regulation of SREBP1c and C/EBPβ transcription factors[J]. J Endocrinol, 2013, 216(3): 343－352.

[18] Lee J S, Zheng Z, Mendez R, *et al*. Pharmacologic ER stress induces non-alcoholic steatohepatitis in an animal model[J]. Toxicol Lett, 2012, 211(1): 29－38.

[19] Choi Y J, Shin H S, Choi H S, *et al*. Uric acid induces fat accumulation *via* generation of endoplasmic reticulum stress and SREBP-1c activation in hepatocytes[J]. Lab Invest, 2014, 94(10): 1114－1125.

[20] Fang D L, Wan Y, Shen W, *et al*. Endoplasmic reticulum stress leads to lipid accumulation through upregulation of SREBP-1c in normal hepatic and hepatoma cells[J]. Mol Cell Biochem, 2013, 381(1/2): 127－137.

[21] Abu-Elheiga L, Matzuk M M, Kordari P, *et al*. Mutant mice lacking acetyl-CoA carboxylase 1 are embryonically lethal[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(34): 12011－12016.

[22] Chirala S S, Chang H, Matzuk M, *et al*. Fatty acid synthesis is essential in embryonic development: fatty acid synthase null mutants and most of the heterozygotes die in utero[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(11): 6358－6363.

[23] Weber L W, Boll M, Stampfl A. Maintaining cholesterol homeostasis: sterol regulatory element-binding proteins[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(21): 3081－3087.

[24] Matsuda M, Korn B S, Hammer R E, *et al*. SREBP cleavage-activating protein (SCAP) is required for increased lipid synthesis in liver induced by cholesterol deprivation and insulin elevation[J]. Genes Dev, 2001, 15(10): 1206－1216.

[25] Moon Y A, Liang G S, Xie X, *et al*. The Scap/SREBP pathway is essential for developing diabetic fatty liver and carbohydrate-induced hypertriglyceridemia in animals[J]. Cell Metab, 2012, 15(2): 240－246.

（收稿：2014-09-05；修回：2014-10-16）

（编辑　郭建秀）