竹节参总皂苷通过调节 miR-34a/PPARα 干预小鼠脂肪肝的作用研究

熊海容[1]，吴利春[1]，段丽[1]，张长城[2]，袁丁[2,3]，刘朝奇[1]

（1.肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室，三峡大学，湖北宜昌 443002）

（2.三峡大学医学院，湖北宜昌 443002）（3.三峡大学仁和医院，湖北宜昌 443002）

摘要：本文研究了竹节参总皂苷对小鼠脂肪肝的干预作用。应用高糖高脂饲料制备脂肪肝模型，同时采用灌胃的方法给予竹节参低剂量（50 mg/kg）和高剂量（100 mg/kg）处理，检测血清和肝脏中的相关指标，HE 和油红 O 染色来检测小鼠肝脏组织病理学变化，进一步用 Real-Time PCR 检测肝组织 miRNA 及相关基因的转录水平，Western Blotting 检测 PPARα 的表达情况。结果显示模型组的小鼠血清 ALT 的水平，肝脏组织的 TG 均高于正常组；HE 和油红 O 染色发现模型组肝组织表现为脂肪样变，脂质明显沉积，提示脂肪肝模型成立。Real-Time PCR 和 Western Blotting 检测，模型组的 miR-34a、SREBP-1c 和 FASN 的表达较正常组升高，而 PPARα 表达降低。与模型组相比，经过竹节参药物的干预后肝脏组织病理学变化明显改善，脂质沉积减少；ALT 水平降低。因此竹节参总皂苷可能通过 miR-34a 靶向 PPARα 的信号通路发挥对小鼠脂肪肝的干预作用，这一发现为脂肪肝的预防与治疗提供有效参考。

关键词：竹节参总皂苷；非酒精性脂肪肝病；miR-34a；PPARα；SREBP-1c

文章篇号：1673-9078(2017)8-1-6 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.8.001

Protective Effects of *Panax japonicus* Saponins on Non-alcoholic Fatty Liver Disease through MiR-34a and PPARα Expression Regulation

XIONG Hai-rong[1], WU Li-chun[1], DUAN Li[1], ZHANG Chang-cheng[2], YUAN Ding[2,3], LIU Chao-qi[1]

(1.Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, China Three Gorges University, Yichang 443002, China) (2. Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China) (3.Renhe Hospital of China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: The protective effects of total saponins from *Panax japonicus* (TSPJ) on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in mice were investigated. A mouse model of NAFLD was established by feeding a high-fat, high-fructose diet, with simultaneous gavage administration of TSPJ (50 mg/kg and 100 mg/kg) to the TSPJ group for 3 weeks. Serum- and liver-related indicators were monitored; histopathologic changes in liver were observed using hematoxylin-eosin (HE) and oil red O staining. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) and western blotting were utilized for the detection of transcriptional levels of miRNA and related genes in liver tissue and the expression level of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α, respectively. The levels of serum alanine aminotransferase (ALT) and liver triglyceride (TG) in the model group were higher than those in the normal group. HE staining and oil red O staining showed fatty degeneration and fat deposition in the liver tissue, suggesting that a successful NAFLD model had been established. The results of RT-PCR and western blot analysis revealed that the expression levels of microRNA (miR)-34a, sterol regulatory element binding protein (SREBP)-1c, and fatty acid synthase (FASN) were significantly increased. Compared with the fatty liver group, the TSPJ treatment group showed significantly improved histopathologic changes in liver, reduced fat deposition, and reduced ALT levels. Therefore, intervention of the total saponins of *Panax japonicus* on fatty liver in mice was realized by blocking miR-34a, targeting PPARα signaling pathways.

Key words: total saponins of *Panax japonicus*; non-alcoholic fatty liver diseases; microRNA-34a; peroxisome proliferator-activated receptor alpha; sterol regulatory element binding protein-1c

收稿日期：2017-01-17

基金项目：国家自然科学基金面上项目（81673675）

作者简介：熊海容（1995-），女，在读硕士研究生，研究方向：药理学

通讯作者：刘朝奇（1962-），男，博士，研究方向：分子生物学和免疫药理

非酒精性脂肪性肝病（NAFLD）是以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的一类临床病理综合征，包括单纯性脂肪肝以及由其演变的脂肪性肝炎（NASH）和肝硬化[1]。目前认为NAFLD是脂质代谢异常所导致的肝细胞脂肪变性，其中脂肪酸β-氧化在肝脏脂肪代谢途径中起着关键作用[1,2]。过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferation activate receptor α，PPARα)是脂肪酸β-氧化的关键蛋白，属于PPARs家族中一员，是Ⅱ型核受体超家族成员。某些内源性脂肪酸及外源性过氧化物体增殖物可作为配体激活PPARα，其主要作用在肝脏，是调节脂质转运和代谢所必需的。PPARα的激活可上调参与脂类分解代谢相关酶基因的表达，是众多调控脂分解代谢中最为关键的调控因子[3,4]。PPARα受多种因素调控，其中某些miRNAs可能调控其表达。

miR-34a是包含22个碱基的非编码RNA分子，可调控多个靶基因，影响细胞增殖、凋亡及代谢相关基因的表达。miR-34a作为一个特定miRNA在肝脏疾病中发挥作用，大量的文献报道miR-34a水平在NASH患者肝组织中表达上调[5,6]。因此本研究探讨在脂肪性肝病的发生发展中miR-34a和PPARα在肝脏中的表达及其可能机制。

竹节参(Panax Japonics C.A.Mey)系五加科植物，主要分布于我国的西南地区，是湖北特色药用植物资源之一，具有滋补强壮、止血通经、舒筋止痛、活血祛淤、健胃和脾等功效[7]。现代药理研究发现竹节参的主要活性成分为皂苷类，其对中枢神经系统、免疫系统、心血管系统及代谢性疾病等具有广泛且稳固的药理作用。我们前期研究发现竹节参总皂苷对肝细胞脂肪变性具有较好的干预活性[8]，在此基础上本研究探讨竹节参总皂苷可能通过miR-34a和PPARα调控脂代谢干预NAFLD的作用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验动物

SPF级昆明雄性小鼠，周龄为4~6周，体重为(20±2) g，由三峡大学实验动物中心提供，动物生产许可证号（(SCXK)（鄂）2008-0005）。

1.1.2 动物饲料

高脂高糖饲料是由基础饲料、猪油、果糖和胆固醇等混合而成，比例为按照56.5%普通饲料、3%胆固醇、10%猪油、0.5%胆酸钠和30%果糖以重量比混合固定成型后送到武汉农科院辐照灭菌。

1.1.3 主要试剂

总RNA提取试剂盒，大连宝生物科技有限公司；胆固醇，国药集团化学试剂有限公司；逆转录试剂盒，大连宝生物科技有限公司；PCR引物，生工生物工程（上海）股份有限公司合成；鼠单抗β-actin（A5316），上海优宁维生物科技有限公司；PPARα多克隆抗体（RLT3835），苏州睿瀛生物技术有限公司；羊抗鼠二抗（926-32210）和羊抗兔二抗（926-68071），美国LI-COR公司。

1.1.4 主要仪器

梯度PCR仪（德国Applied Biosysterms公司）；Powerpas Basic蛋白电泳仪器（美国Bio-Rad公司）；Gene Genius凝胶分析系统（英国SYNGNE公司）；Gellogic 200凝胶成像分析系统（美国Kodak公司）；Odyssey近红外荧光显影仪（美国LI-COR公司）；DU730核酸蛋白分析仪(美国Beckman Coulter公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 竹节参总皂苷的提取

竹节参，五加科植物竹节参的干燥根茎。根据课题组前期方法，以干燥的竹节参粗粉为原料，利用高效液相色谱，采用醇提法进行提取和鉴定[9]。

1.2.2 非酒精性脂肪肝小鼠模型的建立

昆明小鼠（雄性）40只，体重在(20±2) g左右，然后随机将其分成4组，每组10只。分组依次为正常对照组，高脂高糖模型组，竹节参低剂量组，竹节参高剂量组。正常对照组用普通饲料喂养，模型组用自制的高糖高脂饲料造模，同时用竹节参低剂量（50 mg/kg）和高剂量（100 mg/kg）采用灌胃的方法处理小鼠，喂养3周后处死小鼠检测相关指标。

1.2.3 小鼠生化指标的检测

将小鼠眼球取血后，进行颈椎脱臼法处死，迅速取肝组织标本进行固定及-80 ℃冻存。小鼠血液放置30 min，经3000 r/min，10 min进行离心，离心后取上清液血清，用试剂盒进行检测丙氨酸氨基转移酶（ALT）的相关指标；同样用试剂盒检测肝组织中的甘油三酯（TG）的相关指标。

1.2.4 肝脏组织HE染色

取出10 mm×3 mm的新鲜肝脏大叶组织块放入包埋盒中，然后用中性福尔马林固定液固定，24 h后再经过常规脱水处理，石蜡进行包埋，然后切片，进行HE染色，显微镜下观察肝组织病理变化情况。

1.2.5 油红O染色

取冻存组织，在冰冻切片机上切片，切片厚度约10 μm。进行常规油红O染色，然后在光镜下观察肝

脏脂滴的分布情况。

1.2.6 RT-PCR 检测小鼠肝组织 FASN 和 SREBP-1c 的表达

称取冻存小鼠肝组织 50 mg，用试剂盒提取小鼠肝脏组织的总 RNA，电泳检测 RNA 的完整性。用核酸仪测定 RNA 的浓度，再经逆转录试剂盒得到 cDNA。以 GAPDH 为内参，经 PCR 反应扩增目的基因。PCR 的反应体系为 25 μL 体系，分别为 DEPC 水 10.5 μL，2×PCR Master mix 12.5 μL，PPARα 或 FASN 引物 1 μL，cDNA1 μL。RT-PCR 实验反应条件：94 ℃、5 min；94 ℃、30 s；55 ℃、30 s；72 ℃、30 s；72 ℃、5 min，4 ℃、∞；PCR 反应完毕后，2%琼脂糖凝胶电泳，用凝胶成像系统检测，分析条带的灰度值，计算 FASN、SREBP-1c 与 GAPDH 的相对表达量。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences used for real-time PCR

基因	引物序列	扩增长度/bp
FASN	Sense: 5‘GCATTCGTGATGGAGTCGTG 3’ Antisense: 5‘GGTCTTGGAGATGGCAGAAATC 3’	188
SREBP-1c	Sense: 5‘GGATGCGGCTGTTGTCTACC 3’ Antisense: 5‘GCCAGGTTAGGGCACTTAG 3’	107
GAPDH	Sense: 5‘GGTTGTCTCCTGCGACTTCAA 3’ Antisense: 5‘CCACCCTGTTGCTGTAGCC 3’	134
miR-34a	Sense: 5‘CGAGGATCCGCTTCCCTCCTGTGCTAGG3’ Antisense: 5‘CGAGAATTCCCATACCCACCAGTATGGTAG3’	79
U6	Sense: 5‘CTCGCTTCGGCAGCACA3’ Antisense: 5‘AACGCTTCACGAATTTGCGT3’	94

1.2.7 实时荧光定量 PCR 检测 miR-34a 的表达情况

称取冻存小鼠肝组织 50 mg，用试剂盒提取小鼠肝脏组织的总 RNA，电泳检测 RNA 的完整性。用核酸仪测定 RNA 的浓度，再经 miR-34a 和 U6 特异性引物逆转录得到 cDNA。以 U6 为内参，经 PCR 反应扩增目的基因。反应体系为 SYBER Green 5 μL；RNase-free water 2.6 μL；引物 0.4 μL；cDNA 2 μL；反应条件为：95 ℃、5 min；94 ℃、30 s；60 ℃、35 s；72 ℃、15 s；75 ℃、1 s；cycles 40；72 ℃、10min；溶解曲线从 56 ℃到 98 ℃，每 0.3 ℃读取一次；引物序列见表 1；PCR 反应结束后读取 CT 值，利用软件 Opticon Monitor 分析，计算 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 分析 miR-34a 在各个样本中的表达情况。

1.2.8 Western-Blotting 检测小鼠肝组织 PPARα 蛋白的表达

称取冻存肝脏组织 50 mg，加入预冷的 PBS 洗涤组织，以 RIPA:PMSF:蛋白酶抑制剂=100:1:1 的体积比配制裂解液。每管加入 500 μL 的裂解液，应用电动匀浆器进行组织匀浆，冰浴裂解 15 min，再经 4 ℃，12000 r/min，离心 10 min 后取上清分装。用 BCA 蛋白浓度试剂盒测定所提取的蛋白浓度；加入 5×loading buffer 混匀后，沸水（100 ℃）煮 10 min 使之变性；在 10% SDS-PAGE 凝胶进行电泳，然后将蛋白电转印至 NC 膜上。用 5%脱脂牛奶室温下封闭 NC 膜 1 h，在 4 ℃孵育一抗（抗体比例为 1:1000）过夜；洗膜后再加对应来源的荧光二抗（抗体比例为 1:20000），在室温下孵育 1 h，洗膜后用 Odyssey 近红外荧光显影仪进行显影；利用 Image J 软件对所得的条带进行分析。

1.2.9 统计学处理方法

根据前面所得的实验数据采用 SPSS 18.0 软件来进行分析，RT-PCR，Western Blotting 的结果利用 Image J 软件分析，然后数据都用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）来表示；同时利用单因素方差分析组间数据，以 $p<0.05$ 判定为有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 小鼠的生化指标检测结果

表 2 小鼠相关生化指标 ALT 及 TG 的检测比较

Table 2 Comparison of mouse ALT and TG levels in each group

组别	ALT	TG
正常	37.4±4.6	3.8±0.2
模型	43.2±5.4#	5.3±0.4#
竹节参-低	30.9±6.6*	4.0±0.3*
竹节参-高	35.8±3.1*	3.4±0.3*

注：与正常组比较，#$p<0.05$；与模型组比较，*$p<0.05$。

和正常组相比，高脂高糖饲料喂养的模型组的小鼠肝脏组织的 TG，血清的 ALT 的含量都是显著增高的，具有统计学意义（$p<0.05$）。和模型组相比，用药

组干预后其肝脏组织的 TG，血清的 ALT 的含量都是显著降低的，具有统计学意义(p<0.05)，见表 2 和图 1。

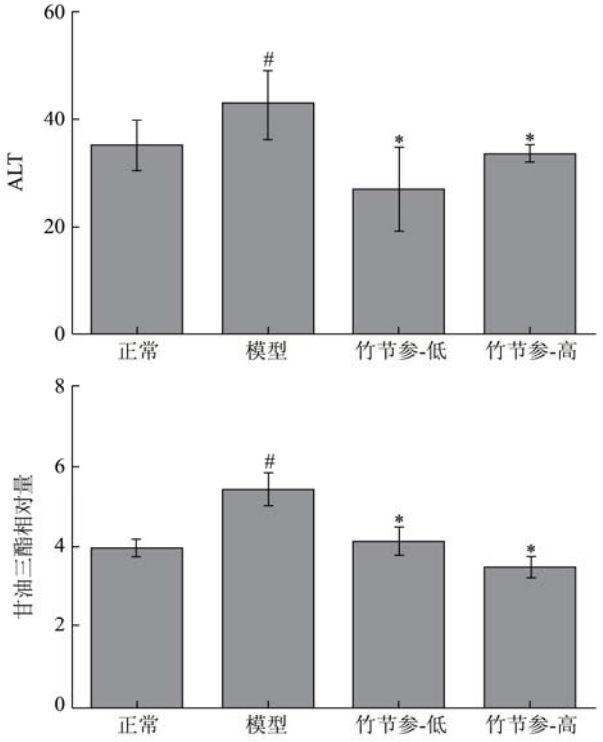

图 1 小鼠相关生化指标 ALT 和 TG 的检测比较

Fig.1 Comparison of serum ALT and TG levels in mice

注：与正常组比较，#p<0.05；与模型组比较，*p<0.05。

2.2 HE 染色和油红 O 染色结果

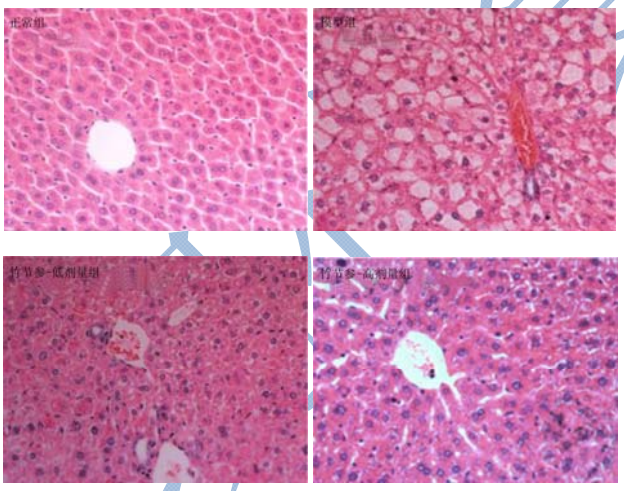

图 2 小鼠肝组织 HE 染色

Fig.2 Hepatic tissues stained with HE from each group (200×)

经过 HE 和油红 O 染色结果发现，正常组的小鼠肝组织，其肝细胞紧密而且均一，呈现规则的形状，肝索围绕的中央静脉紧密的以放射状排列。模型组的小鼠肝脏，其肝细胞肿胀，细胞变圆，而且有较明显的脂滴，细胞排列不规则。见图 3，通过上述肝组织情况显示，NAFLD 模型成立。与模型组相比较，竹节参用药的低剂量组和高剂量组的肝细胞排列较为紧密，脂肪空泡情况有显著改善，见图 2。

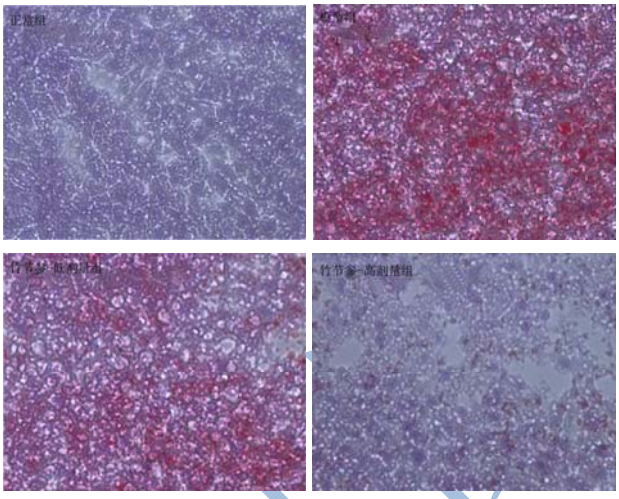

图 3 小鼠肝组织油红 O 染色

Fig.3 Hepatic tissues stained with oil red O from each group (200×)

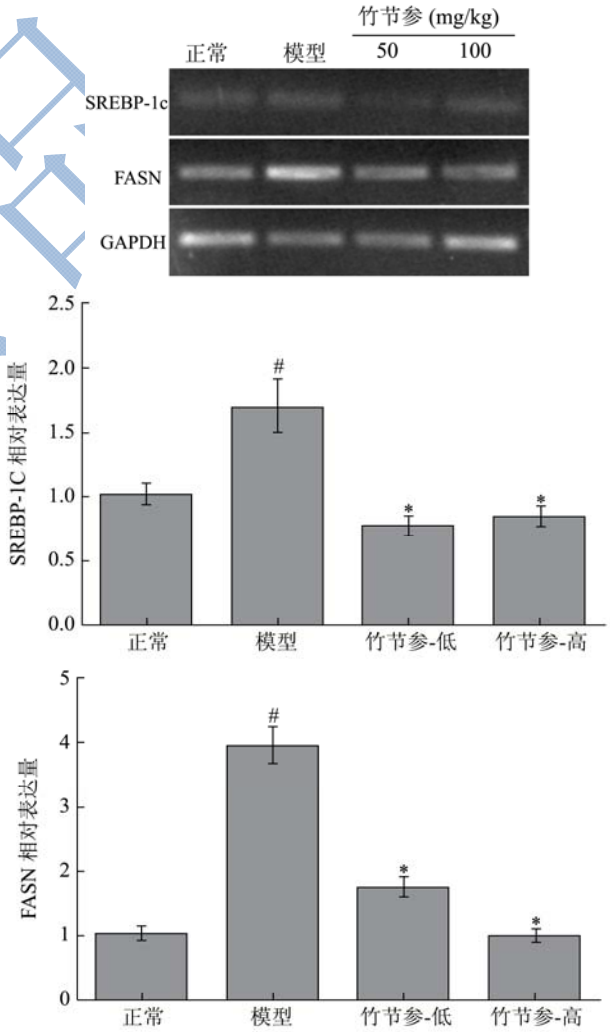

图 4 RT-PCR 检测基因 SREBP-1c 和 FASN 的表达情况

Fig.4 Expression of SREBP-1c and FASN mRNA by RT-PCR

注：与正常组比较，#p<0.05；与模型组比较，*p<0.05。

2.3 RT-PCR 检测小鼠肝脏组织 FASN 及 SREBP-1c 的表达

SREBP-1c 是参与脂肪合成和葡萄糖代谢的关键基因，其直接调控的靶基因包括有脂肪酸合成酶(Fatty acid synthetase，FASN)，乙酰辅酶 A 羧化酶(Acetyl CoA carboxylase，ACC)等。PPARα 与 SREBP-1c 代谢调节的相互作用在调节血脂和胰岛素调控中起重要作用[10]。有文献报道 PPARα 抑制肝脏脂质合成是通过抑制 SREBP 相关基因表达的激活，从而降低肝脏甘油三酯和胆固醇水平[11]。我们的实验结果显示脂肪变性的肝组织中 SREBP-1c 的表达及其下游的 FASN 转录水平明显增高。用 RT-PCR 对 FASN，SREBP-1c 基因的表达情况进行分析，和正常组的 FASN 和 SREBP-1c 的表达情况相比，模型组 FASN 和 SREBP-1c 都是高表达的($p<0.05$)；经过竹节参药物的干预后，FASN 和 SREBP-1c 的表达显著降低（$p<0.05$）（图 4），这一结果显示 FASN，SREBP-1c 在 NAFLD 小鼠肝组织是高表达，经过竹节参药物的干预，通过调节 miR-34a 的表达进而调节其下游基因 FASN，SREBP-1c，使其表达降低。

2.4 实时荧光定量 PCR 检测 miR-34a 的表达情况

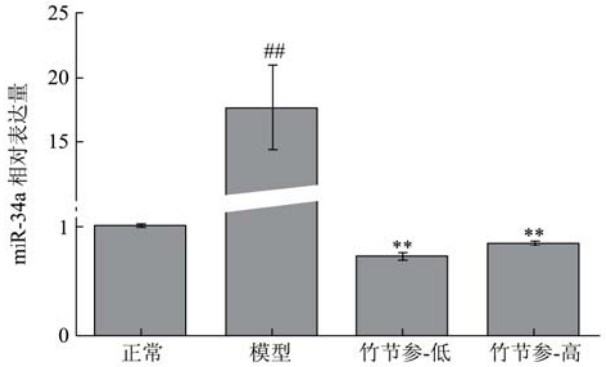

图 5 Real-Time PCR 检测肝小鼠组织 miR-34a 的表达

Fig.5 Expression of miR34a in mouse hepatic tissues by real-time PCR

注：与正常组比较，##$p<0.01$；与模型组比较，**$p<0.01$。

随着芯片技术的改进和发展，脂肪肝特征性的 miRNA 表达谱也不断被阐明[12]，miRNA 的研究给探讨脂肪肝的发生发展机制提供了一个全新的视角，为脂肪肝的诊疗提供新的思路。大量研究已经证实 miR-34a 在多种代谢性疾病中存在异常表达，提示 miR-34a 可能是一个重要的能量代谢调控子[5,6]。应用 miRNA 微阵列技术分析代谢综合征合并 NASH 的患者肝组织和血清的 miRNA 表达差异情况，结果显示 NAFLD 患者的肝脏和血清中 miR-34a 表达增加[13]。Katsura[14]等采用 miRNA 微阵列方法分析蛋氨酸和胆碱缺乏(methionine-choline-deficient，MCD)饮食诱导的 NASH 小鼠肝组织中 miRNA-34a 的表达明显上调；我们运用实时荧光定量 PCR 对模型小鼠肝脏组织进行分析，发现 miR-34a 在 NAFLD 中显著上调（$p<0.01$），与文献报道结果一致。经过竹节参药物干预后，miR-34a 的表达显著降低，达到正常水平，见图 5。

2.5 Western Blotting 检测小鼠肝脏组织中 PPARα 的表达情况

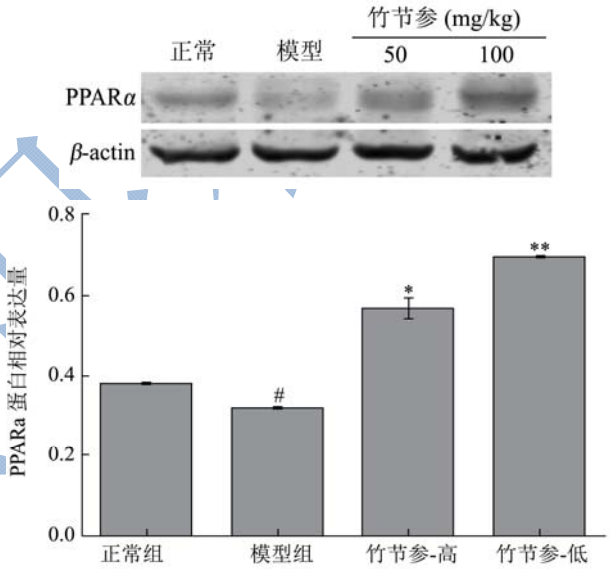

图 6 Western Blotting 检测小鼠肝组织 PPAR α 的表达

Fig.6 Expression of PPARα in mouse hepatic tissues by western blot

注：与正常组比较，#$p<0.05$；与模型组比较，*$p<0.05$。

从靶基因的预测情况来看，miR-34a 参与脂质代谢、糖代谢及炎症过程的调控(http://www. mirbase. org/)。通过生物信息学预测 PPARα 为 miR-34a 的直接作用靶基因(http://www.targetscan. org/vert_71/)；并且发现，抑制 miR-34a 的表达可以上调 PPARα 的表达，进一步诱导其下游脂肪氧化相关基因 CPT1 和 CPT2(参与脂肪酸 β-氧化)的上调以及 SLC27A1、SLC27A4 和 ACBD3(参与脂肪酸转运、结合)的上调[15]。在小鼠中敲除 PPARα 后发现高脂饲喂小鼠与对照组相比，脂质分解代谢基因表达下调，代谢受阻，呈现明显的肝脏脂沉积，甚至导致肥胖发生，提示 PPARα 在脂代谢中的靶向作用[16]。我们的结果发现模型组小鼠的肝脏组织中 Western Blotting 检测的

PPARα 的表达水平明显低于正常组，差异具有统计学意义（$p<0.05$）；而竹节参用药干预后，PPARα 的表达有明显增加（$p<0.05$）（见图 6）。结合上述 miR-34a 的检测结果提示在高脂饮食诱导的脂肪肝组织 miR-34a 的表达水平显著增高，同时 PPARα 蛋白表达水平降低，miR-34a-PPARα 途径介导脂肪肝的发生发展。经过竹节参药物的干预，抑制 miR-34a 的表达，使得 PPARα 表达增高，改善肝组织的脂质积累，提示竹节参总皂苷具有显著的降脂作用[7,17]。

3 结论

我们的研究发现模型组的小鼠血清 ALT 的水平，肝脏组织的 TG 均高于正常组，HE 和油红染色发现模型组肝组织表现为脂肪样变，脂质明显沉积，提示脂肪肝模型成立。竹节参药物的干预后肝脏组织病理学变化明显改善，脂质沉积减少；ALT 水平降低；Real-Time PCR 和 Western Blotting 检测，模型组的 miR-34a、SREBP-1c 和 FASN 的表达较正常组升高（$p<0.05$），而 PPARα 表达降低($p<0.05$)。因此，竹节参总皂苷通过抑制 miR-34a 的表达，从而导致 PPARα 表达增高，以及与之相关的 SREBP-1c 基因的下调，改善肝脏脂质沉积，干预脂肪肝的发生发展，该实验为竹节参预防与治疗 NAFLD 提供了一个新的思路。

参考文献

[1] Petta S, Gastaldelli A, Rebelos E, et al. Pathophysiology of non alcoholic fatty liver disease [J]. Int. J. Mol. Sci., 2016, 17(12)

[2] Grander C, Grabherr F, Moschen A R, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: cause or effect of metabolic syndrome [J]. Visceral Medicine, 2016, 32(5): 329-334

[3] Gross B, Pawlak M, Lefebvre P, et al. PPARs in obesity-induced T2DM, dyslipidaemia and NAFLD [J]. Nature Reviews Endocrinology, 2017, 13(1): 36-49

[4] Liss K H H, Finck B N. PPARs and nonalcoholic fatty liver disease [J]. Biochimie, 2016

[5] Liu X L, Pan Q, Zhang R N, et al. Disease-specific miR-34a as diagnostic marker of non-alcoholic steatohepatitis in a Chinese population [J]. World Journal of Gastroenterology, 2016, 22(44): 9844-9852

[6] Salvoza N C, Klinzing D C, Juliet G C, et al. Association of circulating serum miR-34a and miR-122 with dyslipidemia among patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. Plos One, 2016, 11(4): 0153497

[7] 左锐,袁丁.竹节参化学成分和药理活性研究进展[J].时珍国医药,2005,16(9):838-839,841
ZUO Rui, YUAN Ding. Research on chemical constituents and biological activities of rhizoma of panax japonicas [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2005, 16(9): 838-839, 841

[8] 覃玉娥,孙志伟,张长城,等.竹节参皂苷不同浓度乙醇洗脱物对肝细胞损伤的保护作用[J].广东医学,2016,37(11): 1618-1622
QIN Yu-e, SUN Zhi-wei, ZHANG Chang-cheng, et al. Total saponins of *Panax japonicus* in different concentration ethanol protective effect on liver cell injury [J]. Guangdong Medical Journal, 2016, 37(11): 1618-1622

[9] 何毓敏,鲁科明,袁丁,等.竹节参总皂苷的制备工艺及含量测定[J].中国中药杂志,2008,33(22):2607-2611
HE Yu-min, LU Ke-ming, YUAN Ding, et al. Preparation technology and content determination of total saponins of *Panax japonicas* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008, 33(22): 2607-2611

[10] Qin S, Yin J, Huang K. Free fatty acids increase intracellular lipid accumulation and oxidative stress by modulating PPARα and SREBP-1c in L-02 cells [J]. Lipids, 2016, 51(7): 797-805

[11] Ferré P, Foufelle F. Hepatic steatosis: a role for de novo lipogenesis and the transcription factor SREBP-1c [J]. Diabetes Obesity & Metabolism, 2010, 12 (Supplement s2): 83-92

[12] 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

[13] Yamada H, Suzuki K, Ichino N, et al. Associations between circulating microRNAs (miR-21, miR-34a, miR-122 and miR-451) and non-alcoholic fatty liver [J]. Clinica Chimica Acta, 2013, 424: 99-103

[14] Katsura A, Morishita A, Iwama H, et al. MicroRNA profiles following metformin treatment in a mouse model of non-alcoholic steatohepatitis [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2015, 35(4): 877-84

[15] Ding J, Li M, Wan X, et al. Effect of miR-34a in regulating steatosis by targeting PPARα expression in nonalcoholic fatty liver disease [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 13729

[16] Batatinha H A, Lima E A, Teixeira A A, et al. Association between aerobic exercise and rosiglitazone avoided the NAFLD and liver inflammation exacerbated in PPAR-α knockout mice [J]. Journal of Cellular Physiology, 2016, 232(5): 1008

[17] Hiromichi O, Masayuki Y, Zheng Y N, et al. Anti-obesity effects of chikusetsusaponins isolated from *Panax japonicus* rhizomes [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2005, 5(1): 1-10

现代食品科技