

# 四环素诱导 Balb/c 小鼠肝脏脂肪代谢相关基因表达谱的变化

# Effects of Tetracycline on Expression Profiles of Genes Associated with Lipid Metabolism in Balb/c Mouse Liver

高利宏/敖林/胡冉/刘晋祎/曹佳\*  
(第三军医大学预防医学系卫生毒理教研室,  
重庆 400038)

GAO Li-hong, AO Lin, HU Ran, LIU Jin-yi, CAO Jia\*  
(Department of Toxicology, Third Military Medical  
University, Chongqing 400038, China)

**【摘要】**背景与目的: 利用小鼠毒理基因芯片观察四环素对 Balb/c 小鼠肝脏脂肪代谢相关基因表达的影响。材料与方法: 设计 200 mg/(kg·d) 和 50 mg/(kg·d) 剂量条件下包含 3 个时相点的四环素致小鼠肝脏损伤动物模型, 提取小鼠肝脏 RNA 样本, 利用小鼠毒理基因芯片进行杂交实验。结果: 综合各组基因表达谱分析发现与脂肪代谢相关的差异表达基因 28 个, 涉及肝内脂肪合成、分解代谢、转运等多方面, 对这些基因的功能和相互关系进行了初步分析和探讨。结论: 四环素作用于 Balb/c 小鼠肝脏后引起脂肪代谢相关多个基因显著改变, 为深入探讨四环素肝脏毒性分子机制提供了线索。

**【关键词】** 基因芯片; 四环素; 肝脏

中图分类号: R595; R994.1

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2006)02-0144-05

**【ABSTRACT】** BACKGROUND & AIM: To search for the differentially expressed genes related to lipid metabolism in the liver of Balb/c mouse treated by tetracycline hydrochloride using mouse toxicological microarray. MATERIAL AND METHODS: The mouse toxicological microarray was developed. The model of tetracycline hydrochloride damaging mouse liver, which included two doses (200 mg/(kg·d) and 50 mg/(kg·d)) and three time phases, was established. The total RNA of mouse liver was isolated for hybridization experiment of the microarray. RESULTS: 28 genes differentially expressed in all treated groups were found. These were involved in lipid synthesis, catabolism and transport in the liver, preliminary analyses of these gene functions and their relationship were performed. CONCLUSION: Multiple genes were markedly changed in the liver of Balb/c mouse treated by tetracycline hydrochloride. This set the stage for further research on the molecular mechanisms of the hepatotoxicity of tetracycline.

**【KEY WORDS】** gene chip; tetracycline; liver

抗生素引起的药物性肝损伤在临床药源性疾病中占很大比例, 四环素是一种历史悠久的抗生素, 大量临床资料和动物实验已证实它可导致以脂肪变性为主要特征的肝脏损伤, 但对于其毒性作用机制的研究还缺乏较为完整和清晰的了解。为探讨从基因表达谱水平上研究药物毒性作用机制的可行性, 我们的研究使用我室与香港城市大学联合研制的小鼠毒理基因芯片<sup>[1,2]</sup>, 对四环素致小鼠肝脏毒性的基因表达谱进行了观察。现对与

脂肪代谢相关的差异表达基因进行报道。

## 1 材料与方法

### 1.1 四环素致小鼠肝脏毒性动物模型的建立

1.1.1 动物 SPF 级 Balb/c 小鼠, 体重 20~25 g, 雄性, 购自四川省医学科学院实验动物中心, 合格证号: 0011160。

1.1.2 试剂 盐酸四环素 (Tetracycline hydrochl-

收稿日期: 2005-05-27; 修订日期: 2005-12-28

基金项目: 国家 973 课题分题 (No. 2002CB512901); 国家杰出人才基金项目 (No. 3012503), 国家自然科学基金 (No. 30200354, No. 30271136)

作者简介: 高利宏 (1971-), 男, 四川省自贡市人, 讲师, 博士研究生, 主要从事药理基因组学方面研究。

\* Correspondence to: CAO Jia Tel: 86-23-68752271, E-mail: caojia@mail.tmmu.com.cn

oride) 购于美国 Sigma 公司 (CAS 64-75-5) 临用前以注射用生理盐水溶解。

**1.1.3 分组及检测指标** Balb/c 小鼠 42 只随机分组为 1、3、7 d 的正常对照组和四环素高剂量组, 及 3 d 四环素低剂量组, 共 7 组, 每组 6 只动物。正常对照组给予生理盐水、四环素高剂量组于 1、3、7 d 给予 200 mg/(kg·d) 和四环素低剂量组连续 3 d 腹腔注射 50 mg/(kg·d), 记录各组动物给药前和给药期结束后体重。各组最后一次给药后禁食 12 h, 股动脉放血处死, 血浆标本进行血浆丙氨酸氨基转换酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、总胆红素 (TBIL) 等生化指标检测, 分离小鼠肝脏, 取左小叶进行病理切片观察, 其余大部肝脏组织迅速置于液氮, 随后转入 -80 °C 保存至 RNA 提取。

### 1.2 小鼠毒理基因芯片的 cDNA 克隆来源

以本室前期化合致癌物作用小鼠肝细胞实验后高密度基因芯片表达谱结果、Clontech 公司 Atlas Plastic Mouse 5K 等部分商用芯片数据库及有关文献资料为参考, 目的性挑选美国国家老人学研究院 (National Institute on Aging, NIA) 的 15K 和 7.4K 小鼠 cDNA 文库中与环境化合物致癌、外来化合物及药物代谢相关的基因片段的 cDNA 克隆 (<http://lgsun.grc.nia.nih.gov/cDNA/cDNA.html>) 1 796 个, 芯片构建由本室与香港城市大学深圳研究院联合完成。

### 1.3 样本标记、芯片杂交和数据处理

**1.3.1 RNA 提取** 按 Roche 公司 Tripure 试剂盒说明抽提小鼠肝脏总 RNA, 各组等量合并总 RNA 样本, 于 RNasecure 保存液 -20 °C 保存。

**1.3.2 探针标记及芯片杂交** 参考美国国立环境

卫生科学研究所 cDNA 芯片探针标记和芯片杂交方案进行 (<http://dir.niehs.nih.gov/microarray/methods.htm>), 将小鼠肝脏总 RNA 逆转录为 cDNA, 用 Cy3-dUTP 标记正常对照组, Cy5-dUTP 标记四环素给药组, 同时另取两管平行进行荧光交换染色标记。

**1.3.3 荧光扫描及数据处理** 采用 ScanArray Express 激光共聚焦扫描仪对芯片进行扫描, Quantarray3.0 对扫描图象进行数据提取, 原始数据采用局部均值化标准化<sup>[3]</sup>, 对同组荧光交换染色标记的两张芯片上均有表达的数据取均值, 数据满足以下条件的作进一步分析: ①Cy3 或 Cy5 任一信号强度 > 800; ②Cy3 和 Cy5 分别扣减各自背景后信号强度的中位值比值相差 2 倍以上; ③Cy3 和 Cy5 信号比值在荧光交换重复的两张芯片上均有表达并呈一致趋势。

**1.4 芯片结果的实时荧光定量 PCR 验证** 选择 7 d 高剂量四环素组芯片杂交结果中差异表达较明显的 5 条基因进行荧光定量 PCR 验证, 荧光定量 PCR 委托上海基康生物技术有限公司完成。

**1.5 统计学方法** 动物体重指标及生化指标采用 SPSS10.0 分别进行 Student's *t* 检验、多因素方差分析和 Dunnett *t* 检验统计处理。

## 2 结果

### 2.1 动物模型

#### 2.1.1 各组动物体重指标统计

见表 1。经统计, 3 d 和 7 d 四环素高剂量组小鼠平均体重与相应给药前比较有显著下降, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 提示小鼠机体出现能量代谢负平衡。

#### 2.1.2 各组动物血浆生化指标

表 1 各时相点正常对照组与四环素处理组小鼠平均体重对比 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 1 The mean body weight of normal control groups and groups treated by tetracycline at each time point ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Groups	1 d		3 d		7 d	
	Before treated	After treated	Before treated	After treated	Before treated	After treated
Control	23.27 ± 0.72	23.50 ± 0.80	23.85 ± 0.52	23.43 ± 0.42	23.56 ± 0.48	23.26 ± 0.77
200 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	23.85 ± 0.62	23.40 ± 0.75	23.33 ± 0.47	21.18 ± 0.72**	22.89 ± 0.77	19.45 ± 1.29**
50 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	-	-	23.19 ± 0.59	22.95 ± 0.63	-	-

\*\*  $P < 0.01$ , vs before treated.

见表 2。1、3、7 d 高剂量四环素组血浆生化指标相应正常对照组比较, 可见 ALT、AST 显著升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), TG 显著下降, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 1 d 组 TC 显著下降, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 提示 200 mg/(kg·d) 剂量四环素引起小鼠肝细胞损伤和脂代谢紊乱; 低剂量四环素组仅见 ALT 与正常对照组比较显著升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

### 2.1.3 各组动物肝脏病理切片观察

见图 1, 镜下观察, 正常对照组无异常病理改变, 高剂量四环素 1、3、7 d 组均出现较广泛的空泡变性, 同时各组不同程度地伴有血管充血、肝窦缺血、少量小泡性脂肪变性、点状坏死灶、淋巴细胞、中性粒细胞浸润等变化。低剂量四环素 3 d 组镜下变化较轻, 仅见少量空泡变性。

### 2.2 芯片杂交实验结果

利用小鼠毒理基因芯片检测了两种剂量四环素给药后不同时点小鼠肝脏组织基因表达谱与正常对照组



表 2 四环素作用后各组动物6项血浆生化指标统计表( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Table 2 Clinical chemistry parameters of control and treat groups( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Subject	1 d		3 d			7 d	
	Control	High dose	Control	High dose	Low	Control	High dose
ALT(IU · L <sup>-1</sup> )	34.66 ± 11.86	125.33 ± 22.74 **	40.66 ± 11.90	96.83 ± 9.36 **	70.16 ± 18.16 **	46.66 ± 15.52	97.66 ± 34.81 **
AST(IU · L <sup>-1</sup> )	99.50 ± 9.53	52.66 ± 104.83 **	116.51 ± 37.55	296.45 ± 36.88 **	139.16 ± 22.911	131.16 ± 40.36	188.52 ± 45.23 *
ALP(IU · L <sup>-1</sup> )	134.50 ± 21.77	120.16 ± 14.71	156.16 ± 66.20	153.00 ± 41.49	46.83 ± 26.85	151.66 ± 53.77	120.83 ± 34.85
TG(mmol · L <sup>-1</sup> )	2.02 ± 0.39	0.65 ± 0.14 **	1.89 ± 0.51	0.82 ± 0.65 **	1.63 ± 0.39	1.75 ± 0.59	0.81 ± 0.21 **
TC(mmol · L <sup>-1</sup> )	3.16 ± 0.37	1.55 ± 0.32 **	2.98 ± 0.62	2.56 ± 0.45	2.77 ± 0.36	2.76 ± 0.45	2.44 ± 0.37
Tbil(μmol · L <sup>-1</sup> )	6.81 ± 0.25	7.11 ± 0.46	6.53 ± 0.27	7.75 ± 0.48	6.76 ± 0.32	6.91 ± 0.46	6.45 ± 0.74

\* P < 0.05, vs control; \*\* P < 0.01, vs control.

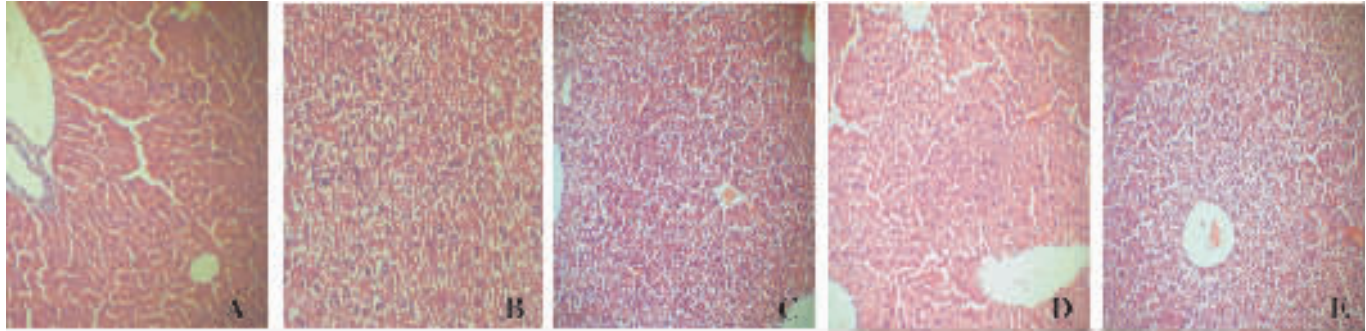


图 1 正常对照及四环素处理各组小鼠肝脏病理切片 (HE 染色, × 40)

Figure 1 Light photomicrographs of livers from a control and mice treated with tetracycline (HE, × 40). A: control, B: treat by high dose for 1 d, C: treat by high dose for 3 d, D: treat by low dose for 3 d, E: treat by high dose for 7 d

的差异表达情况,并对各组芯片杂交结果中差异的表达功能分类标准进行了检索分类,就其中与脂肪代谢相关基因根据 GeneOntology(<http://www.geneontology.org/>) 的差异表达基因分析见表 3。

表 3 各四环素处理组与正常对照组中与脂肪代谢相关的差异表达基因

Table 3 Differentially expressed genes related of lipid metabolism between control and mice treated by tetracycline hydrochloride

Genebank I	Gene symbol	DRatio(treat/control)				Molecular function related lipid metabolism (GeneOntology)
		A	B	C	D	
NM-007437.1	aldh3a2	0.15	0.36	-	0.34	aldehyde-dehydrogenase-activity
NM-009230.1	soat1	2.27	2.59	2.89	-	cholesterol-metabolism, sterol-O-acyltransferase-activity
NM-010726.1	phyh	0.30	-	0.38	-	fatty-acid-alpha-oxidation
XM-129113.1	cpt1a	0.27	-	-	-	fatty-acid-beta-oxidation
NM-007382.1	acadm	0.28	-	-	-	fatty-acid-beta-oxidation
XM-128833.1	acaa2	0.29	0.47	0.44	-	fatty-acid-beta-oxidation
NM-015729.1	acox1	0.38	-	0.25	-	fatty-acid-beta-oxidation
NM-016772.1	ech1	0.38	0.50	0.49	-	fatty-acid-beta-oxidation
NM-010634.1	fabp5	5.37	-	2.77	-	fatty-acid-binding/transport
NM-009127	scd1	3.17	0.10	-	-	fatty-acid-biosynthesis, stearyl-CoA-desaturase-activity
NM-009692.1	apoa1	0.41	-	0.41	2.55	high-density-lipoprotein-binding
BC018384.1	scp2	0.34	0.49	0.35	-	lipid binding, sterol-carrier-protein-X-related-thiolase-activity
NM-008797.1	pex	0.33	0.40	0.50	0.25	lipid-biosynthesis
NM-013492.1	clu	-	-	0.42	-	lipid-metabolism
NM-008642.1	mttp	0.18	0.46	0.49	0.40	lipid-transport
BC009119.1	abcd3	0.40	-	-	-	lipid-transport
NM-008491	lcn2	8.12	3.52	2.22	6.63	lipid-transport
NM-007468	apoa4	0.49	-	0.48	-	lipid-transporter-activity, apolipoprotein
NM-009696.1	apoe	-	0.46	0.44	-	lipid-transporter-activity, apolipoprotein
NM-009695.1	apoc2	-	2.20	2.74	2.60	lipid-transporter-activity, apolipoprotein
NM-008509.1	lpl	-	2.88	2.94	3.55	lipoprotein-lipase-activity
NM-013472.1	anxa6	-	-	-	2.08	phospholipid-binding
NM-008819.1	pemt	-	2.02	-	2.04	phospholipid-biosynthesis/fatty-acid-transport
NM-009804.1	cas1	0.18	0.43	0.31	-	steroid-biosynthesis
NM-130407.1	ugt1a1	0.40	-	0.31	-	steroid-biosynthesis
BC014714.1	hmgcs2	0.13	-	0.48	0.48	cholesterol/sterol biosynthesis

Notes: A, B, C, D represent respectively the Ratios in treat groups of high dose for 1, 3, 7 days and of low dose for 3 days, compared with control.

表 3 显示, 各组与脂肪代谢相关的差异表达基因共有 26 个, 高剂量四环素 1 d 组下调基因 16 个, 上调 4 个; 3 d 组下调 8 个, 上调 5 个; 7 d 组下调 13 个, 上调 5 个; 低剂量四环素 3 d 组下调 4 个, 上调 6 个。各组差异表达的脂肪代谢相关基因占总体差异表达基因百分比分别为 16.81%, 20%, 19.79%, 12.50%。功能分类主要涉及脂肪酸合成、胆固醇合成、磷脂合成、脂肪酸氧化、脂质转运蛋白、脂肪水解酶等。

### 2.3 实时荧光定量 PCR 结果验证

我们用实时荧光定量 PCR 抽检了 7 d 高剂量四环素组与正常对照组比较表达差异较明显的 5 条基因, 结果显示芯片结果与实时荧光定量 PCR 结果差异性上调与下调表达趋势一致, 证实了芯片杂交结果的可靠性 (表 4)。

表 4 实时荧光定量 PCR 与芯片结果的比较

Table 4 Comparison of microarray and real-time PCR result

Gene symbol	Genebank ID	Treat/Control	
		R1	R2
Lcn2	NM-008491	2.22	4.53
Apoc2	NM-009695	2.74	1.80
Ephx2	NM-007940	0.28	0.50
Acox1	NM-015729	0.25	0.65
Ces3	NM-053200	0.19	0.28

Notes: R1 compared with control by microarray R2 compared with control by real-time PCR

## 3 讨论

实验中我们设立了不同剂量和作用时间下四环素致小鼠肝脏毒性模型, 通过检测药物作用后各组小鼠体重变化、血浆生化指标、肝脏病理切片等指标, 证明该模型是成功的, 而病理切片没有出现非常明显和广泛的脂肪变性可能与实验时间跨度较短有关<sup>[4]</sup>。

利用本室构建的小鼠毒理基因芯片检测各组基因表达谱差异, 对其中差异表达的脂肪代谢相关基因统计发现, 高剂量组各时相点下调基因明显多与上调基因, 提示该剂量 [200 mg/(kg·d), ip] 四环素作用下小鼠肝脏脂肪代谢作用受阻。而低剂量 [50 mg/(kg·d), ip] 3 d 组上调基因多于下调基因, 对比高剂量组, 除一些与脂肪合成、转运功能相关的基因没有明显受抑外, 另一些基因如 *anxa6*、*apoa1* 等明显上调, 说明不同剂量四环素作用诱发的肝脏组织脂肪代谢基因表达变化不同。

肝脏在机体脂肪代谢中发挥关键作用, 文献资料显示, 脂质蓄积和脂肪变性是四环素所致肝脏损伤的典型病理特点, 其机制是多方面的, 肝内脂肪摄取、合成、分解、转运等几个方面任一环节发生障碍, 均可能导致脂

质的堆积<sup>[4, 5]</sup>。综合各组芯片结果发现: ①与脂肪合成相关的基因多数下调, 其中变化显著的硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 (SCD1) 在高剂量 1 d 组显著上调, 3 d 组却显著下调, 该酶是从头合成单链不饱和脂肪酸的一个关键酶, Miyazaki 等<sup>[6]</sup>报道 *scd1* 基因突变型小鼠可通过增加 AMP 活化蛋白激酶和乙酰 CoA 羧化酶的磷酸化, 刺激肝脏软脂酰-CoA 的氧化, 降低肝脏脂肪变性的机率。上调的基因相对较少, 参与磷脂酰胆碱合成的磷脂酰乙醇胺 N-甲基转移酶 (PEMT) 在高剂量 3 d 组和低剂量 3 d 组升高, 该酶还参与富含 ApoB100 的 VLDL 分泌和脂肪酸转运<sup>[7]</sup>。②与脂肪酸分解代谢相关的多个基因在高剂量组中显著下调, 尤以 1 d 组最为显著, 包括参与脂肪酸 β 氧化的肉毒碱-棕榈酰基转移酶 1A (CPT1A)、乙酰辅酶 A 酰基脱氢酶 (ACADM)、乙酰辅酶 A 酰基转移酶 2 (ACAA2)、乙酰辅酶 A 酰基氧化酶 1 (ACOX1)、烯酰基辅酶 A 水合酶 1 (ECH1) 等, 及参与脂肪酸 α 氧化的植烷醇辅酶 A 羟化酶 (PHYH), 未观察到相关基因上调, 提示高剂量组四环素作用初期开始就有明显的小鼠肝脏脂肪酸分解代谢受抑。在低剂量组, 没有明显的该类相关基因差异改变。③与脂肪转运相关的基因, 高剂量组中微粒体甘油三酯转运蛋白 (MTTP)、固醇载体蛋白 2 (SCP2) 在 1、3、7 d 组均显著下调。MTTP 是主要存在于肝细胞和小肠细胞微粒体腔内的脂质转运蛋白, 由 57.541 8 ku (58 kD) 和 87.304 8 ku (88 kD) 的两种亚基组成异二聚体复合物, 在富含 TG 的脂蛋白 (VLDL、CM) 的正常组装、分泌中起重要作用<sup>[8]</sup>, Lettéron 等<sup>[9]</sup>发现在包括四环素在内的多个可引起小鼠肝脏脂肪变性的药物作用均有 MTTP 活性受抑现象, 推测该基因可能是引起药物性脂肪变性的一个关键因素。SCP2 是一类参与胆固醇酯和普遍性脂肪酸结合和转运的蛋白。另外下调的还包括参与过氧化物酶体内长链和超长链脂肪酸的转运的 ATP 结合盒转运子 D3 (ABCD3), 主要与胆固醇酯化和转运相关的载脂蛋白类 ApoA1、ApoA4、ApoE 等。同时, 也观察到多个转运相关基因上调, 最为显著的有脂肪酸结合蛋白 5 (FABP5) 和脂质运载蛋白 2 (LCN2), 在 d1 组就分别有 5.37 倍和 8.12 倍的升高, 脂肪酸结合蛋白是一组低分子量 [13.889 4 ~ 14.881 5 ku (14 ~ 15 kD 左右)] 结合长链脂肪酸的胞质蛋白, 以增加脂肪酸在胞内扩散等方式调节脂肪酸代谢, 脂质运载蛋白是一大类较分散的小分子胞外蛋白, 通过特定的胞膜受体转运小分子疏水性底物, Descalzi 等<sup>[10]</sup>报道, LCN2 和 FABP5 具有较高同源性, 并且同属应激性蛋白, 这可能是其显著升高的原因, 同时也反映了肝组织在受损 (药物中毒) 时应激保护措施中的脂肪



代谢相关基因的调节现象。在低剂量组中,上调的转运相关基因多见,但 MTP 仍然显著下调。④脂蛋白 CM 和 VLDL 水解的关键酶 LPL 和其关键配体 ApoC2 在高低剂量组均显示上调,表明四环素作用下肝内脂肪水解为甘油和脂肪酸的活动增强。

基因表达的改变既有可能是诱发某种细胞水平上生理、病理活动机制的起因,也有可能是后者对转录水平上的反馈性作用。本研究中的动物模型生化、病理等指标已证实肝脏的损伤和脂肪代谢紊乱的存在,各种上调和下调的脂肪代谢相关基因正反映了这种诱发和反馈调节机制的互见关系。脂肪合成相关基因的多数下调,推测高剂量组四环素所致的肝脏脂质堆积,并不来自于内源性脂肪合成增加,其多数基因的改变可能属于一种代偿性下调。而脂肪酸分解代谢相关的一系列基因在初期即开始的下调,及随后编码 LPL 和 ApoC2 的基因的上调,同时肝内缺乏调节外源性非酯化脂肪酸继续摄取的反馈抑制机制,这些变化则可能引起肝内脂肪酸的过量堆积。堆积的脂肪酸易形成脂质过氧化,及通过一种溶酶体途径刺激 $\alpha$ -TNF 表达,进一步损伤线粒体,诱发细胞凋亡和坏死<sup>[11]</sup>,线粒体的损伤反过来更加重了脂肪酸分解代谢的抑制。在负责脂肪转运的一系列基因中, MTP、SCP2、ABCD3 及载脂蛋白 ApoA1、ApoA4、ApoE 等的下调可能是引起甘油三酯、游离脂肪酸、胆固醇及胆固醇酯等脂质肝内蓄积的一个主因,相应伴随着 LCN2、FABP5、PEMT 等基因的应激性和反馈调节性上调。综合以上一系列的基因变化,我们可以看到在高剂量四环素作用下肝细胞脂肪代谢各环节的网络互动关系和引发代谢紊乱的多种因素。

低剂量四环素组病理仅呈现轻微的肝脏空泡变性,其相应的脂肪代谢基因与高剂量组相比,在脂质合成、转运等相关基因的变化上大多是倾向于缓解脂质蓄积形成的,脂肪酸分解代谢相关基因也基本没有下调改变,但 MTP 的抑制提示可能经该蛋白转运甘油三酯的作用减弱也是诱发相应病理变化的重要原因。

药物性肝损伤的病理过程涉及多基因参与的多个机制,我们的研究利用自行构建的小鼠毒理基因芯片观察和分析了四环素作用于小鼠肝脏操作的脂肪代谢相

关的基因改变为更深入探讨四环素肝毒性机制提供了线索,对涉及更多代谢途径的基因表达谱分析工作正在进行中。

### 参考文献:

- [1] 敖琳,曾志雄,方志俊,等.小鼠毒理基因芯片的设计和制作[J].癌变·畸变·突变,2006,18(2):135-138.
- [2] 敖琳,高利宏,胡冉,等.小鼠毒理基因芯片的可靠性验证[J].癌变·畸变·突变,2006,18(2):139-143.
- [3] 伍亚舟,张彦琦,黄明辉,等.基因芯片表达数据的标准化策略研究[J].第三军医大学学报,2004,26(7):594-597.
- [4] Letteron P, Fromenty B, Terris B, et al. Acute and chronic hepatic steatosis lead to *in vivo* lipid peroxidation in mice [J]. *Hepatology*, 1996, 24(2): 200-208.
- [5] Amacher DE, Martin BA. Tetracycline-induced steatosis in primary canine hepatocyte cultures [J]. *Fundam Appl Toxicol*, 1997, 40(2): 256-263.
- [6] Miyazaki M, Dobryzn A, Sampath H, et al. Reduced adiposity and liver steatosis by stearoyl-CoA desaturase deficiency are independent of peroxisome proliferator activated receptor-alpha [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(33): 35 017-35 024.
- [7] Watkins SM, Zhu X, Zeisel SH, et al. Phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase activity and dietary choline regulate liver-plasma lipid flux and essential fatty acid metabolism in mice [J]. *Nature*, 2003, 133(11): 3 386-3 391.
- [8] Larsson SL, Skogsberg J, Bjorkegren J, et al. The low density lipoprotein receptor prevents secretion of dense apoB100-containing lipoproteins from the liver [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(2): 831-836.
- [9] Letteron P, Sutton A, Mansouri A, et al. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein: another mechanism for drug-induced steatosis in mice. [J]. *Hepatology*, 2003, 38(1): 133-140.
- [10] Descalzi CF, Dozin B, Zerega B, et al. Extracellular fatty acid binding protein (ex-FABP) is a stress protein expressed during chondrocyte and myoblast differentiation [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2001, 9Suppl A: S118-122.
- [11] Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A, et al. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF-alpha expression via a lysosomal pathway [J]. *Hepatology*, 2004, 40(1): 185-194.