

## 胆汁酸代谢相关核受体的研究进展

李小林, 朱心强\*

(浙江大学医学院卫生毒理学教研室, 浙江 杭州 310006)

**摘要:** 胆汁酸是胆固醇代谢的主要终产物,也是肝和小肠对食物中的脂类进行分解、吸收与转运的重要成分。体内多种核受体参与胆汁酸的代谢调节,如法呢醇受体、孕烷 X 受体、组成性雄烷受体、维生素 D 受体、肝 X 受体  $\alpha$ 、过氧化物酶体增殖物激活受体等。核受体调节胆汁酸代谢的研究近年来已成为国内外研究的热点,研究胆汁酸代谢相关的核受体,对于了解胆汁酸代谢的调节机制,指导胆汁酸代谢相关疾病的临床合理用药以及探索新药等方面有重要意义。

**关键词:** 胆汁酸; 代谢; 受体, 核

**中图分类号:** R962

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-3002(2007)02-0152-05

胆汁酸是胆固醇代谢的主要产物,机体约有 50% 的胆固醇被分解生成胆汁酸。胆汁酸是体内胆固醇的溶解剂和肠内脂类乳化剂,对肝肠内疏水化合物的吸收、清除和转运有重要作用。肠肝循环过程中胆汁酸经过许多代谢变化,如酰胺化,羟基化,磺化以及葡糖醛酸化等,利于胆汁酸的消除。胆汁酸本身具有细胞毒性,其在肝内蓄积可引起肝脏疾病,如胆汁淤积。正常情况下,胆汁酸的合成、转运、代谢受到严格控制,主要是一些反馈和负反馈机制自动调整的过程。体内多种核受体参与胆汁酸稳态的调节,主要有法呢醇受体(farnesoid X receptor, FXR)、孕烷 X 受体(pregnan X receptor, PXR)、组成性雄烷受体(constitutive androstane receptor, CAR)、肝 X 受体  $\alpha$ (liver X receptor alpha, LXR $\alpha$ )、维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)和过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$ (peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPAR $\alpha$ )等组成复杂的转录级联网络调节体内胆汁酸的代谢。这些核受体属于 NRI 家族,它们作为转录因子,结合到特异性配体启动子的反应元件,在转录水平调节胆汁酸代谢的关键酶和转运体基因,从而调节体内胆汁酸水平。

### 1 法呢醇受体

FXR 又称为胆汁酸感应器,其参与调控胆汁酸代谢过程

收稿日期: 2006-07-12 接受日期: 2006-12-13

**作者简介:** 李小林(1980-),男,安徽省怀宁人,在读硕士,研究方向为药物毒理学;朱心强(1957-),男,浙江省武义人,医学博士,教授,主要研究方向为生殖毒理学。

\* 联系作者 E-mail: jamson00@sohu.com Tel: (0571) 88208145

的关键酶和转运体基因,从而调节体内胆汁酸的合成和肝肠循环的重吸收,维持胆汁酸内稳态。不同胆汁酸激活 FXR 的效率不同<sup>[1]</sup>。鹅去氧胆酸(chenodeoxycholic acid, CDCA)是 FXR 最强的激活剂,后依次为去氧胆酸(deoxycholic acid, DCA),胆酸(cholic acid, CA)和熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)。不同胆汁酸与 FXR 结合,诱导配体依赖的激活区构象变化,从而以不同的方式和亲合力与转录辅激活因子结合。FXR 在肝、肠道以及肾等胆汁酸所在的部位表达。目前已知 FXR 基因包括 *Fxr*  $\alpha$  和 *Fxr*  $\beta$ <sup>[2]</sup>。由于启动子和 RNA 选择性的剪切,人和小鼠的 *Fxr*  $\alpha$  含 4 个同工型,即 FXR  $\alpha$ 1, FXR  $\alpha$ 2, FXR  $\alpha$ 3 和 FXR  $\alpha$ 4。

胆汁酸在转录水平抑制胆固醇 7 $\alpha$ 1 单加氧酶(cholesterol 7  $\alpha$ 1 monooxygenase, CYP7A1)基因的表达,抑制胆固醇 7 $\alpha$ -羟化酶活性<sup>[3]</sup>。肝受体同系物 1(liver receptor homolog-1, LRH-1)是 CYP7A1 的强烈激活剂,胆汁酸激活 FXR,诱导小异二聚体伴侣(small heterodimer partner, SHP)表达,SHF 随之结合到 LRH-1 和 LXR $\alpha$ ,抑制 CYP7A1 的表达。

FXR 激活可以增强成纤维细胞生长因子 15(fibroblast growth factor 15, FGF-15)的转录和分泌<sup>[4]</sup>。FGF-15 与跨膜酪氨酸激酶受体成纤维细胞生长因子受体 4 结合,激活 C-Jun 氨基端激酶(JNK)通路,抑制 CYP7A1 和 CYP8B1 的活性。

CYP8B1 催化 7 $\alpha$ -羟化胆汁酸的 12 $\alpha$  位羟基化,控制 CA 转化为 CDA 的速率,影响整个胆汁酸池的疏水性<sup>[5]</sup>。CYP8B1 包含负性胆汁酸反应元件,可与 LRH-1 和 LXR $\alpha$  结合。FXR 诱导 SHP 表达,从而抑制 CYP8B1 酶活性。然而,FXR 基因敲除小鼠并不能抑制 CYP8B1 的表达,这表明 CYP8B1 启动子存在平行或补充的不依赖 FXR 途径反馈抑制途径。

固醇-27-羟化酶(CYP27A1)是催化胆汁酸合成产酸通路第一步的线粒体酶。已发现 CYP27A1 启动子近端包含可以结合肝细胞核因子 4 $\alpha$ (hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ , HNF4 $\alpha$ )胆汁酸负性反应元件,反馈抑制胆汁酸合成。HNF4 $\alpha$  可以反式激活 CYP27A1 表达,这种激活过程可以被胆汁酸的 FXR-SHP 途径所抑制<sup>[5]</sup>。

FXR 参与调控尿苷二磷酸葡糖醛酸基转移酶 2B4(uridine 5'-diphosphate-glucuronosyltransferase, UGT2B4)基因的表达<sup>[6]</sup>。UGT2B4 能催化胆汁酸的葡糖醛酸结合。其与 FXR 结合形成六聚体 DNA 模序并被激活,可将疏水胆汁酸转化成为疏水、低毒的葡糖醛酸衍生物。

FXR 能激活胆汁酸代谢修饰酶基因,如胆汁酸辅酶 A 合成酶(bile acid CoA synthetase, Bacs)和胆汁酸辅酶 A 氨基酸

*N*-乙酰转移酶(bile acid CoA amino acid *N*-acetyltransferase, Bat)<sup>[7]</sup>。Bacs 和 Bat 启动子包含 IR-1 元件,与 FXR-RXR 异二聚体结合,促使胆汁酸结合成氨基乙酸和氨基乙磺酸,降低过量胆汁酸的细胞毒性。

当肝细胞内胆汁酸过高,胆汁酸激活 FXR,与胆盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)启动子近端的 IR-1(反向重复的 AGGTTCA 六聚体)元件结合,诱导 BSEP 表达,促进胆汁排入胆管<sup>[8]</sup>。

FXR 可以激活转运体多药耐药基因 MDR3(multidrug resistance 3)<sup>[9]</sup>。MDR3 具有转运磷脂功能,介导磷脂,特别是卵磷脂通过细胞膜,形成包含胆固醇、胆汁酸、磷脂的混合微团,降低过量胆汁酸产生的细胞毒性。

FXR 激活回肠胆汁酸结合蛋白(ileal bile acid-binding protein, IBABP)表达<sup>[10]</sup>。IBABP 存在于回肠细胞质中,在肠肝循环过程中能自由进入肠细胞,利于肠道对胆汁酸的吸收。人和小鼠的 IBABP 中存在 FXR 的反应元件,FXR 介导 IBABP 的表达增强,调节肠细胞胆汁酸的吸收。

OATP1B3 是人肝细胞基侧膜的吸收系统,负责转运多种有机离子,外来化学物和多肽。FXR 可以结合并激活有机阴离子转运多肽 1B3(organic anion transporting polypeptide 1B3, OATP1B3)的 IR-1 元件<sup>[11]</sup>。OATP1B3 可以转运胆汁酸,但其对胆汁酸转运通过肝细胞膜的作用机制尚不清楚,有可能其作为其他转运体活性减弱时的替补途径,从而保持胆汁淤积时肝内清除外来化学物。

另外,当肝细胞胆汁酸含量过高时,FXR 调节 BSEP 表达,关闭主要的胆汁酸吸收系统;同时 SHP 与 RXR-RXR 异二聚体反应结合到大鼠牛磺胆酸钠 c 转运体(sodium taurocholate c-transporting polypeptide, Ntcp)启动子的 DNA 反应元件,使 Ntcp 表达减弱。

## 2 孕烷 X 受体

PXR,又称甾体和外来化学物感应器,参与调节肝和小肠中许多甾体和外源化学物的解毒酶类以及代谢转运体。PXR 可被多种不同结构的内源性和外源性化学物所激活,如甾体、胆汁酸以及红霉素等。同时给予 PXR 基因敲除小鼠跟野生型小鼠富含胆汁酸食物时,基因敲除小鼠肝内胆汁酸含量明显增高。PXR 特异性激动剂(曲尼司特和 PCN)可明显减轻由胆汁淤积引起的肝脏毒性。这些表明 PXR 能调节胆汁酸代谢,保护肝脏免受过量胆汁酸引起的损伤。

PXR 通过诱导目的基因的表达,包括细胞色素 P450 酶类,胆汁酸转运体多药耐药相关蛋白 2 和 3(multi-drug resistance-associated protein 2 and 3, MRP2, MRP3)以及磺基转移酶等,促进胆汁酸代谢和清除<sup>[13-14]</sup>。当细胞内胆汁酸水平过高时,PXR 激活能抑制胆汁酸合成酶 CYP7A1 表达,防止体内生成过多的胆汁酸,其机制尚不清楚。PXR 通过调节 CYP3A4,促进胆汁酸的分解和排出,如 LCA 被 CYP3A4 氧化生成 6 $\alpha$ ,6 $\beta$ -羟基衍生物。MRP2 是 ABC 转运体家族成员,介导葡萄糖醛酸胆汁酸和硫酸胆汁酸盐通过肝细胞膜,PXR 的特定配体能激活人和大鼠的 MRP2/Mrp2 启动子,促进胆汁酸

排出。此外,当体内胆汁淤积时,胆汁酸激活 PXR,引起新的调节,如 PXR 激活可加快胆汁酸羟化(CYP11, CYP2b10),硫酸盐化和血红素结合,快速清除胆汁酸和血红素结合物等。

PXR 能调节肝内特定的转运体的表达,如肝脏离子转运多肽<sup>[15]</sup>。啮齿类动物肝脏离子转运多肽(Oatp1a4)可以转运胆汁酸、外源化学物以及肝细胞膜基侧的双歧性分子。Oatp1a4 启动子区域至少包含 3 个 DR-3 元件,其与 PXR-RXR 二聚体结合。LCA 或其他 PXR 的激动剂能激活 Oatp1a4,促进肝内胆汁酸的排出。

SHP 可与 PXR 反应,并抑制 PXR 激活 CYP3A4<sup>[16]</sup>。由于胆汁酸激活 FXR,诱导 SHP 表达,这表明 PXR 可能存在不需直接结合胆汁酸而调节细胞内胆汁酸水平通路。

此外,胆汁酸合成受阻时,胆汁酸的前体能激活 PXR,抑制 CYP7A1,抑制胆固醇代谢生成胆汁酸的过程,从而避免体内的胆固醇含量过低,但其具体机制尚不清楚。

## 3 组成性雄烷受体

CAR 在调节磺化系统,解毒胆汁酸方面有重要作用<sup>[17]</sup>。最早发现 CAR 可以作为外来化学物感应器,激活 CYP2B 基因,而且苯巴比妥可以增强这种激活效应。CAR 可以共享并结合 PXR 的反应元件调节 CYP3A 基因,参与调节胆汁酸代谢。研究表明,CAR 激活可以抵抗 LCA 引起的肝脏毒性。CAR 可以通过结合到磺基转移酶(sulfotransferase, SULT)基因启动子的 CAR 反应元件,调节 SULT 的表达。另外,CAR 可以通过调节 3'-磷酸腺苷 5'-磷酸硫酸合成酶 2(3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthetase 2, PAPSS2)的表达,生成硫酸盐 3'-磷酸腺苷 5'-磷酸硫酸。同时,CAR 参与调节 PB 诱导 SULT 和 PAPSS2 不可缺少的。另外,胆汁酸激活 CAR 可以诱导 Mrp4 表达,从而减轻胆汁酸在肝内蓄积引起毒性<sup>[18]</sup>。

## 4 过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$

PPAR 有 3 种不同亚型,即 PPAR $\alpha$ (NR1C1)、PPAR $\beta/\delta$ (NR1C2)和 PPAR $\gamma$ (NR1C3)。它们在特定组织中表达,PPAR $\alpha$  和 PPAR $\beta/\delta$  在脂肪分解代谢部位表达,而 PPAR $\gamma$  在脂肪组织中高度表达。PPAR 与 RXR 形成异二聚体,结合到目的基因转录区的 PPAR 反应元件上,调节特定基因表达。

PPAR $\alpha$  激活能抑制大鼠肝细胞 CYP7A1、CYP27 的表达,降低 CDCA 的合成,避免 CDCA 继续羟化形成高毒性的胆汁酸 LCA,从而调节胆汁酸的合成和转运。胆汁酸激活 PPAR $\alpha$  可以诱导大鼠 CYP8B1 的表达。另外,PPAR $\alpha$  激活能减少结合氨基乙磺酸盐的合成<sup>[19]</sup>。CDCA 和 CA 通过氨基乙磺酸或甘氨酸结合转变成胆汁酸辅酶 A 硫酯,随后通过 Bat 作用转变成过氨基乙磺酸结合胆汁酸,而硫酯胆汁酸 CoA 可通过胆汁酸 CoA 硫酯酶(bile acid CoA thioesterase, BACTE)作用重新生成非结合胆汁酸。野生型和 PPAR $\alpha$  基因敲除小鼠实验表明,PPAR $\alpha$  激活能诱导 BACTE 的合成和激活,通过依赖 PPAR $\alpha$  方式降低 Bat 的活性,减少胆汁酸生成。

PPAR $\alpha$  能诱导 UGT2B4 的合成<sup>[20]</sup>。UGT2B4 是猪去氧胆酸(hyodeoxycholic acid, HDCA) 葡糖醛酸化的重要酶类。PPAR $\alpha$  激活, 诱导 UGT2B4 基因表达, 使 HDCA 的葡糖醛酸化, 能降低过量的 LCA 对肝脏的毒性。

## 5 维生素 D 受体

VDR 是肠胆汁酸的感应器。VDR 可以结合其拮抗配体石胆酸(lithocholic acid, LCA) 并通过依赖 LCA 方式, 吸收辅激活蛋白类固醇受体辅激活因子(steroid receptor coactivator 1, SRC-1)。VDR 结合并调节 1 $\alpha$ , 25-二羟维生素 D<sub>3</sub>, 降低 LCA 水平。因而, VDR 在 LCA 介导的肠道反应中起重要作用。VDR 与 RXR 形成异二聚体, 结合到 CYP3A4 启动子的 DR-3 反应元件, 激活 CYP3A4 表达<sup>[21]</sup>。

VDR 参与调节脱氢表雄酮磺基转移酶(dehydroepiandrosterone sulfotransferase, SULT2A1) 的表达<sup>[22]</sup>。SULT2A1 编码肝和肠道内源性化合物(包括胆汁酸, 药物等) 的磺基结合反应的酶类。LCA 和牛磺胆酸的磺化更利于其消除。大鼠的 Sult2a1 可以抵抗 LCA 引起的肝脏毒性。除了 SRC-1, 还有两种辅激活因子糖皮质激素受体反应蛋白(glucocorticoid receptor interacting protein 1, GRIP-1) 和 SRC-3 也可以配体依赖的方式与 VDR 结合, 参与 VDR-RXR 的介导的转录。

另外, 1 $\alpha$ , 25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 可以特异性地结合到 VDR 反应元件, 反式激活大鼠尖顶钠依赖胆汁酸转运体(rat apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT) 的表达, 增强肠胆汁酸转运; 而 ASBT 启动子的 VDR 反应元件定点突变或缺失则不能激活 ASBT<sup>[23]</sup>。

## 6 肝 X 受体 $\alpha$

LXR $\alpha$  是饮食胆固醇的感受器, 与胆固醇代谢转化为胆汁酸过程有关。LXR $\alpha$  在维持胆固醇稳态中有重要作用<sup>[24]</sup>。胆固醇主要通过依赖 LXR 的方式调节 CYP7a1。胆固醇激活 LXR $\alpha$ , RXR $\alpha$ -LXR $\alpha$  异二聚体结合到 CYP7a1 I 位点的 DR-4 模序, DR-4 模序中含有胆汁酸反应的关键元件, 从而激活 CYP7a1 基因的转录<sup>[25]</sup>。LXR $\alpha$  基因敲除小鼠给予胆固醇饮食不能向上调节 CYP7a 的表达。单独的 LXR $\alpha$  不能调控 CYP7A1 基因表达, 还需要肝内特异核受体 CYP7A 启动子结合因子(CYP7A promoter binding factor, CPF) 结合并激活 CYP7A1 基因启动子。CPF 近似单体 AGGTCA 结合位点, 含有胆汁酸反应元件。

## 7 结语

胆汁酸是胆固醇的代谢终产物, 体内存在多种复杂机制调节胆汁酸代谢。核受体 FXR, PXR, PPAR 和 LXR $\alpha$  调节胆汁酸代谢相关的酶类和转运蛋白基因的表达, 调节胆汁酸水平。对核受体调节胆汁酸代谢的细致、深入的研究对于治疗胆汁酸代谢相关疾病, 研究相关疾病的药物靶点及预测药物不良反应都有重要意义。如胆汁酸代谢相关核受体的激活或拮抗配体可用于治疗胆汁淤积, 高胆红素血症以及心血

管疾病等。胆固醇的消除主要是通过通过在肝内转化成水溶性的胆汁酸, 进而从肠道排出, 过量胆固醇形成沉淀引起胆石症, 心脏疾病。通常用于降低胆固醇的药物主要是胆固醇合成抑制剂, 它对于胆固醇合成和生物前体无特异性, 而且不能消除从食物或其他途径的胆固醇。新型 FXR 的激动剂 AGN29 和 AGN31 能显著抑制 FXR 的目的基因, 如 IBABP 和 CYP7A1 等, 降低体内胆固醇水平<sup>[26]</sup>。PXR 的激动剂可用于治疗胆汁淤积引起的肝病。PXR 的配体利福平可用于治疗肝内胆汁淤积引起的瘙痒, 一定程度上减少胆汁淤积; 金丝桃属圣约翰草, *Hypericum*, (St. John's wort) 能提高胆汁流动, 用于治疗肝功能紊乱; FXR 拮抗剂香胶甾酮(guggulsterone) 用于降低人血清中胆固醇和甘油三酯的含量<sup>[27]</sup>。FXR, PXR, LXR $\alpha$  和 PPAR $\alpha$  等组成复杂的转录级联网络调节体内胆汁酸的代谢, 胆汁酸以及其他内源性和外源性化合物的激动受体、拮抗受体和目的基因之间的交叉作用, 保证了机体有足够的保护机制应对外源化合物和内源性化学物的毒性作用, 即使一种通道关闭, 另一种机制将起作用。然而, 代谢性核受体功能上的相互作用也可能是一些药物之间相互作用的基础。临床上的一些药物间相互作用通常与药物代谢酶和转运体有关, 主要是药物与核受体作用, 诱导代谢酶和转运体的活性改变, 影响其他药物的处置过程, 从而可能引起副作用。当服用的药物是这些核受体的激动或拮抗配体时, 与受体相互作用, 调节药物代谢酶或转运体表达, 可能起协同或拮抗作用。如核受体 PXR 激活诱导 CYP3A 和其他代谢相关基因表达, 可影响一半以上共同服用药物的疗效, 甚至对患者产生生命危险。核受体调节胆汁酸代谢目的基因的范围分类, 诱导反应的分子机制, 辅调节分子的影响, 信号通路的交叉联系以及核受体基因表达遗传尚有待进一步深入研究, 这对于研究胆汁酸代谢调节的分子机制, 探索新药, 预测药物的相互作用, 指导临床安全、合理用药有重要意义。

## 8 参考文献:

- [1] Lew JL, Zhao A, Yu J, Huang L, De Pedro N, Pelaez F, et al. The farnesoid X receptor controls gene expression in a ligand- and promoter-selective fashion[J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(10): 8856-8861.
- [2] Zhang Y, Kast-Woelbern HR, Edwards PA. Natural structural variants of the nuclear receptor farnesoid X receptor affect transcriptional activation[J]. *J Biol Chem*, 2003, **278**(1): 104-110.
- [3] Li T, Jahan A, Chiang JY. Bile acids and cytokines inhibit the human cholesterol 7  $\alpha$ -hydroxylase gene via the JNK/c-jun pathway in human liver cells[J]. *Hepatology*, 2006, **43**(6): 1202-1210.
- [4] Gutierrez A, Ratliff EP, Andres AM, Huang X, McKeehan WL, Davis RA. Bile acids decrease hepatic paraoxonase 1 expression and plasma high-density lipoprotein levels via FXR-mediated signaling of FGFR4[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26**(2): 301-306.
- [5] Murphy C, Parini P, Wang J, Bjorkhem I, Eggertsen G, Gafvels

- M. Cholic acid as key regulator of cholesterol synthesis, intestinal absorption and hepatic storage in mice[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, **1735**(3):167–175.
- [6] Barbier O, Torra IP, Sirvent A, Claudel T, Blanquart C, Duran-Sandoval D, *et al.* FXR induces the UGT2B4 enzyme in hepatocytes; a potential mechanism of negative feedback control of FXR activity[J]. *Gastroenterology*, 2003, **124**(7):1926–1940.
- [7] Shonsey EM, Sfakianos M, Johnson M, He D, Falany CN, Falany J, *et al.* Bile acid coenzyme A; amino acid *N*-acyltransferase in the amino acid conjugation of bile acids[J]. *Methods Enzymol*, 2005, **400**:374–394.
- [8] Meier Y, Pauli-Magnus C, Zanger UM, Klein K, Schaeffeler E, Nussler AK, *et al.* Interindividual variability of canalicular ATP-binding-cassette (ABC)-transporter expression in human liver[J]. *Hepatology*, 2006, **44**(1):62–74.
- [9] Lang T, Haberl M, Jung D, Drescher A, Schlagenhauer R, Keil A, *et al.* Genetic variability, haplotype structures, and ethnic diversity of hepatic transporters MDR3 (ABCB4) and bile salt export pump (ABCB11)[J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, **34**(9):1582–1599.
- [10] Nakahara M, Furuya N, Takagaki K, Sugaya T, Hirota K, Fukamizu A, *et al.* Ileal bile acid-binding protein, functionally associated with the farnesoid X receptor or the ileal bile acid transporter, regulates bile acid activity in the small intestine[J]. *J Biol Chem*, 2005, **280**(51):42283–42289.
- [11] Maeda K, Kambara M, Tian Y, Hofmann AF, Sugiyama Y. Uptake of ursodeoxycholate and its conjugates by human hepatocytes: role of Na<sup>+</sup>-taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP), organic anion transporting polypeptide (OATP) 1B1 (OATP-C), and oatp1B3 (OATP8)[J]. *Mol Pharm*, 2006, **3**(1):70–77.
- [12] Eloranta JJ, Kullak-Ublick GA. Coordinate transcriptional regulation of bile acid homeostasis and drug metabolism[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2005, **433**(2):397–412.
- [13] Li T, Chiang JY. Mechanism of rifampicin and pregnane X receptor inhibition of human cholesterol 7 alpha-hydroxylase gene transcription[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, **288**(1):G74–G84.
- [14] Cheng X, Klaassen CD. Regulation of mRNA expression of xenobiotic transporters by the pregnane X receptor in mouse liver, kidney, and intestine[J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, **34**(11):1863–1867.
- [15] Cheng X, Maher J, Dieter MZ, Klaassen CD. Regulation of mouse organic anion-transporting polypeptides (Oatps) in liver by prototypical microsomal enzyme inducers that activate distinct transcription factor pathways[J]. *Drug Metab Dispos*, 2005, **33**(9):1276–1282.
- [16] Li T, Chiang JY. Rifampicin induction of CYP3A4 requires pregnane X receptor cross talk with hepatocyte nuclear factor 4 alpha and coactivators, and suppression of small heterodimer partner gene expression[J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, **34**(5):756–764.
- [17] Saini SP, Sonoda J, Xu L, Toma D, Uppal H, Mu Y, *et al.* A novel constitutive androstane receptor-mediated and CYP3A-independent pathway of bile acid detoxification[J]. *Mol Pharmacol*, 2004, **65**(2):292–300.
- [18] Assem M, Schuetz EG, Leggas M, Sun D, Yasuda K, Reid G, *et al.* Interactions between hepatic Mrp4 and Sult2a as revealed by the constitutive androstane receptor and Mrp4 knockout mice[J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(21):22250–22257.
- [19] Solaas K, Kase BF, Pham V, Bamberg K, Hunt MC, Alexson SE. Differential regulation of cytosolic and peroxisomal bile acid amidation by PPAR alpha activation favors the formation of unconjugated bile acids[J]. *J Lipid Res*, 2004, **45**(6):1051–1060.
- [20] Barbier O, Duran-Sandoval D, Pineda-Torra I, Kosykh V, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha induces hepatic expression of the human bile acid glucuronidating UDP-glucuronosyltransferase 2B4 enzyme[J]. *J Biol Chem*, 2003, **278**(35):32852–32860.
- [21] Jurutka PW, Thompson PD, Whitfield GK, Eichhorst KR, Hall N, Dominguez CE, *et al.* Molecular and functional comparison of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and the novel vitamin D receptor ligand, lithocholic acid, in activating transcription of cytochrome P450 3A4[J]. *J Cell Biochem*, 2005, **94**(5):917–943.
- [22] Song CS, Echchgadda I, Seo YK, Oh T, Kim S, Kim SA, *et al.* An essential role of the CAAT/enhancer binding protein-alpha in the vitamin D-induced expression of the human steroid/bile acid-sulfotransferase (SULT2A1)[J]. *Mol Endocrinol*, 2006, **20**(4):795–808.
- [23] Chen X, Chen F, Liu S, Glaeser H, Dawson PA, Hofmann AF, *et al.* Transactivation of rat apical sodium-dependent bile acid transporter and increased bile acid transport by 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> via the vitamin D receptor[J]. *Mol Pharmacol*, 2006, **69**(6):1913–1923.
- [24] Wang J, Einarsson C, Murphy C, Parini P, Bjorkhem I, Gafvels M, *et al.* Studies on LXR- and FXR-mediated effects on cholesterol homeostasis in normal and cholic acid-depleted mice[J]. *J Lipid Res*, 2006, **47**(2):421–430.
- [25] Goodwin B, Watson MA, Kim H, Miao J, Kemper JK, Kliewer SA. Differential regulation of rat and human CYP7A1 by the nuclear oxysterol receptor liver X receptor-alpha[J]. *Mol Endocrinol*, 2003, **17**(3):386–394.
- [26] Dussault I, Beard R, Lin M, Hollister K, Chen J, Xiao JH, *et al.* Identification of gene-selective modulators of the bile acid receptor FXR[J]. *J Biol Chem*, 2003, **278**(9):7027–7033.
- [27] Owsley E, Chiang JY. Guggulsterone antagonizes farnesoid X receptor induction of bile salt export pump but activates pregnane X receptor to inhibit cholesterol 7alpha-hydroxylase gene[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **304**(1):191–195.

## Advance in the research on several nuclear receptors related to bile acid metabolism

LI Xiao-Lin, ZHU Xin-Qiang\*

(Department of Hygiene Toxicology, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

**Abstract:** Bile acids are the major end-products of cholesterol metabolism and complex physiological molecules that are essential for solubilization, absorption, and transportation of dietary lipids in the liver and intestine. Many nuclear receptors coordinate transcription of bile acid homeostasis such as farnesoid X receptor, pregnane X receptor, constitutive androstane receptor, liver X receptor, and peroxisome proliferator-activated receptor. Studies on nuclear receptors related to bile

acid metabolism are important to know the regulation mechanism of bile acid metabolism and direct clinical drug usage.

**Key words:** bile acid; metabolism; receptors, nuclear

\* Corresponding author.

(本文编辑 石 涛)

## 葛根素对自发性糖尿病性肾病大鼠肾小球血管内皮细胞 CD106 mRNA 表达的影响

黄新艳

(湖南省衡阳市中医院, 湖南 衡阳 421001)

微血管内皮细胞损伤是糖尿病性肾病(diabetic nephropathy, DN)的关键早期事件,在糖尿病持续高糖状态下,氧化应激和晚期糖基化终产物(advanced glycation end products, AGEs)是诱发 DN 的重要因素。糖尿病状态下,血管内皮细胞粘附分子 CD106 异常表达。文献报道,葛根素(puerarin)对 DN 具有治疗作用。本研究探讨葛根素治疗 DN 的作用机制。葛根素:河南帅克制药有限公司,批号 20050602。6 月龄雄性 SPF 级自发糖尿病 GK 大鼠适应性饲养 1 周后,选取血糖值在  $11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (北京怡成全血葡萄糖测试仪测定)以上大鼠 20 只,平均随机分为糖尿病组和葛根素组,喂饲高脂饲料。葛根素组每只腹腔注射葛根素  $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,连续 16 周。10 只正常 Wistar 大鼠喂饲普通饲料,作为正常对照组。给药结束后,从背部作纵形切口,取左侧肾脏反复灌洗至发白,横断切取约  $0.5 \text{ mm}^3$  柱状体 2 块,常规固定,石蜡包埋切片,4  $\mu\text{m}$  厚者用于 HE 染色,6  $\mu\text{m}$  厚者采用武汉博士德生物公司生产的原位杂交检测试剂盒(HRP 检测系统)检测肾小球血管内皮细胞 CD106 mRNA 的表达。CD106 mRNA 多相寡核苷酸杂交探针为 5' 地高辛标记,序列:①5'-GGGACTCACAGCCTGTGGTGCTGCAAGTCA-3';②5'-AAATCTCTGGAGCTGCTAGACCCTCGCTGG-3';③5'-TGCAAAGTAAATTATCATTCCAATGGCAGG-3'。HE 染色结果表明,糖尿病组大鼠肾组织可见肾小球明显增大,肾小球细胞增生,散在肾小管上皮细胞肿胀变性、脱落,肾小球毛细血管基底膜弥漫性增厚;葛根素组上述病理改变均有不同程度减轻,表明 DN 模型制备成功,葛根素对 DN 具有一定的治疗作用。原位杂交结果显示,糖尿病组大鼠肾小球着色浓集,肾小球系膜细胞、血管内皮细胞及少量肾小管上皮细胞胞浆均见棕黄色颗粒增多且颜色加深;葛根素组肾组织棕色颗粒少,着色浅。采用计算机显微图像处理系统,对棕黄色杂交信号进行灰度扫描,正常对照组、糖尿病组和葛根素组平均灰度值分别为  $68 \pm 14$ ,  $165 \pm 20$  和  $104 \pm 35$ 。放免法测定血清糖化血红蛋白(serum glycosylated hemoglobin, SGHb)百分率分别为  $(5.0 \pm 1.4)\%$ ,  $(14.6 \pm 4.2)\%$  和  $(10.7 \pm 2.9)\%$ 。用 SPSS10.0 软件采用 LSD 检验法进行组间  $q$  检验,正常对照组与葛根素组、糖尿病组比较均有统计学差异( $n=10$ ,  $P<0.05$ )。上述结果表明,糖尿病大鼠肾小球血管内皮细胞 CD106 基因表达明显增加,血清 SGHb 百分率升高,葛根素治疗后 CD106 基因表达和 SGHb 百分率明显降低,提示葛根素可能通过阻止氧化糖基化作用发挥对 DN 的治疗作用。

(2006-12-19 收稿)

(本文编辑 齐春会)