

白藜芦醇退黄保肝作用及其与胆汁酸排泄的相关性研究

姜超,刘家云,翟兢,李为苏,王琼,许哲*

(南京中医药大学附属医院消化系肿瘤外科,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:研究白藜芦醇的退黄保肝作用及其与胆汁酸代谢转运的相关性。方法:采用 α -萘异硫氰酸酯(ANIT)致大鼠胆汁淤积性肝损伤模型,观察白藜芦醇退黄保肝的作用;原代大鼠三明治肝细胞模型上,观察白藜芦醇对 ANIT 损伤的肝细胞胆汁排泄,肝细胞内总胆固醇、总胆汁酸和总胆红素,以及对胆汁酸排泄相关代谢酶、转运体基因表达的影响。结果:白藜芦醇能显著降低 ANIT 所致胆汁淤积性肝损伤大鼠模型中血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性及总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)和间接胆红素(IBIL)的含量。在原代大鼠三明治肝细胞模型上白藜芦醇可恢复 ANIT 所致原代肝细胞胆管外排指数(BEI)的降低;显著降低 ANIT 所致的肝细胞内总胆汁酸和总胆红素的升高,恢复 ANIT 所致的总胆固醇水平的降低。白藜芦醇可显著改善 ANIT 所致的胆汁外排转运体 Bsep、Mrp2、胆汁酸摄取转运体 Ntcp 及胆汁酸代谢相关酶 Cyp7a1、Cyp8b1 mRNA 表达的降低。结论:白藜芦醇具有退黄保肝、改善胆汁淤积的作用,其机制与调节肝细胞上胆汁酸排泄相关代谢酶和转运体相关。

[关键词] 白藜芦醇;ANIT;胆汁淤积;胆汁酸;转运体

[中图分类号] R575

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)10-1372-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20151008

Protective effects of resveratrol against α -naphthylisothiocyanate-induced cholestasis and its relationship with bile acid excretion

Jiang Chao, Liu Jiayun, Zhai Jing, Li Weisu, Wang Qiong, Xu Zhe*

(Department of Digestive Tumors Surgery, Affiliated Hospital of Jiangsu University of TCM, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of resveratrol against α -naphthylisothiocyanate (ANIT)-induced cholestasis and its relationship with the metabolism of bile acid. **Methods:** The liver injury model rats with cholestasis were established by using ANIT, and then the protective effects of resveratrol were investigated. In sandwich-cultured rat hepatocytes, the effects of resveratrol on hepatocyte bile excretion and the metabolism of bile acid from cholesterol were investigated. The mRNA levels of enzymes and transporters related to bile acid excretion were determined by Q-PCR. **Results:** Resveratrol significantly decreased the activity of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), the serum content of total bilirubin (TBIL), direct bilirubin (DBIL) and indirect bilirubin (IBIL) in ANIT-induced hepatic injury rat models with cholestasis. In sandwich-cultured rat hepatocytes, resveratrol restored ANIT-induced decrease of biliary excretion index (BEI). It also decreased total bile acid and total bilirubin but increased total cholesterol in ANIT-injured hepatocytes. Data from Q-PCR showed that resveratrol made a recovery of ANIT-induced decrease of Bsep, Mrp2, Ntcp, Cyp7a1 and Cyp8b1 mRNA levels in hepatocytes. **Conclusion:** Resveratrol exerted protective effects against ANIT-induced liver injury and alleviated the cholestasis. The mechanism may be involved in the regulation of metabolism enzymes and transporters related to bile acid excretion.

[Key words] resveratrol; α -naphthylisothiocyanate; cholestasis; bile acid; transporter

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(10): 1372-1376]

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金(81202580)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: xi.88@medmail.com.cn

白藜芦醇(resveratrol, Res)广泛存在于种子植物中,是一种植物抗毒素,目前至少在 12 科 31 属 72 种植物中被发现。富含白藜芦醇的植物主要有葡萄、花生及中药虎杖等,尤其在新鲜的葡萄皮中含量最高,约为 50~100 $\mu\text{g/g}$,并主要以反式存在。目前的研究表明,白藜芦醇具有抗肿瘤、抗心血管疾病、保肝^[1-4]、抗炎抗氧化等多种药理学作用,具有很大的药用价值和市场前景。本研究利用经典的 α -萘异硫氰酸酯(α -naphthylisothiocyanate, ANIT)诱发胆汁淤积性肝损伤模型,研究了白藜芦醇退黄保肝的作用,并在原代肝细胞模型上初步探讨其机制,以期对白藜芦醇保肝作用的深入研究和利用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

白藜芦醇(纯度>98%)由天津尖峰生物科技有限公司提供。 α -萘异硫氰酸酯(ANIT, Sigma-Aldrich 公司,美国)。丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、间接胆红素(IBIL)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。大鼠总胆汁酸 ELISA 检测试剂盒和总胆固醇 ELISA 检测试剂盒(上海继锦)。

William's E 培养基、谷氨酰胺、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)和 I 型鼠尾胶原(Gibco 公司,美国)。IV 型胶原酶(Sigma-Aldrich 公司,美国)。Percoll (GE healthcare 公司,德国)。Matrigel 生物基质胶(BD Science 公司,美国)。5(6)-carboxy-2,7-dichlorofluorescein(CDF,天津希恩斯)。RNA 提取、逆转录和定量 PCR 试剂盒(大连宝生物公司)。

Wistar 雄性大鼠 50 只,清洁级,体重(200 \pm 20)g [上海斯莱克实验动物责任有限公司,合格证号:SCXK(沪)2012-002]。饲养条件为:温度(22 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$,湿度(55 \pm 5)%,12 h 光暗循环,消毒饲料与水自由摄取。

1.2 方 法

1.2.1 大鼠保肝退黄实验

Wistar 雄性大鼠 50 只,随机分成 5 组,每组 10 只,分别为正常组、ANIT 模型组、ANIT+白藜芦醇低剂量组(50 mg/kg)、ANIT+白藜芦醇高剂量组(100 mg/kg)和 ANIT+思美泰组(100 mg/kg)。第 1~6 天正常组和模型组分别予等量生理盐水灌胃,其余组则分别给予白藜芦醇或思美泰灌胃,每天 1 次。第 7 天起正常组继续予生理盐水灌胃,其余各组按

100 mg/kg 的剂量予 ANIT 橄榄油溶液灌胃,连续给药 2 d。各组于第 9 天后摘眼球取血,分离血清,按试剂盒方法测定 ALT、AST、TBIL、DBIL 和 IBIL。取出肝脏,剪取肝组织右叶 1 块于冰盐水中漂洗,滤纸吸干,置于 4%多聚甲醛中固定,用于组织 HE 染色。

1.2.2 大鼠原代肝细胞培养与分组处理

制备 I 型鼠尾胶原包被的细胞培养板。采用门静脉胶原酶二步灌注法机械分离大鼠肝细胞^[5]。肝细胞存活率>95%,纯度>95%,调整细胞浓度至 1×10^6 个/mL,移入 24 孔细胞培养板中,每孔 1.5 mL,放入细胞培养箱中培养。细胞种板后 24 h,细胞上层加盖 Matrigel 生物基质胶(0.25 mg/mL 溶解于 William's E 细胞培养液),形成“三明治”构型,置于细胞培养箱继续培养。培养至第 4 天,分别给予 ANIT 20 $\mu\text{mol/L}$ 、白藜芦醇(10、20、40 $\mu\text{mol/L}$),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h,用于胆汁排泄及基因的研究。

1.2.3 大鼠原代肝细胞胆汁排泄功能测定

在三明治原代肝细胞模型中,分别加入含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 或不含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的 Hank's [即(+)HBSS 和(-)HBSS],37 $^{\circ}\text{C}$ 预温孵 15 min。(+)HBSS 预温孵可破坏细胞间紧密连接,打开胆小管。吸去 Hank's 液后加入溶于(+)HBSS 的荧光底物 CDF(10 $\mu\text{mol/L}$),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min 后清洗 3 遍。细胞置于荧光倒置显微镜下确认细胞间胆小管网络已形成。细胞裂解液高速离心(12 000 r/min \times 10 min)后,取上清液 200 μL 至黑色 96 孔酶标板用荧光酶标仪测定含 Ca^{2+} HBSS 孵育条件和无 Ca^{2+} HBSS 孵育条件下的荧光值。根据标准曲线计算蓄积在每个细胞孔中的 CDF 含量(经蛋白浓度校正,单位 pmol/mg protein),激发波长(λ_{ex})和发射波长(λ_{em})分别为 505 和 523 nm。计算药物的胆管外排指数(biliary excretion index, BEI)^[6]。
$$\text{BEI} = (\text{A}_{\text{plus_Ca}^{2+}} - \text{A}_{\text{minus_Ca}^{2+}}) / \text{A}_{\text{plus_Ca}^{2+}} \times 100\%$$

1.2.4 大鼠原代肝细胞中胆汁酸、胆固醇和胆红素的检测

细胞反复冻融后超声破碎。细胞裂解液经 3 000 r/min 离心 20 min 后,取 50 μL 上清直接用于测定。总胆汁酸(TBA)、总胆固醇(TCL)、总胆红素试剂盒使用方法见产品说明书。

1.2.5 大鼠原代肝细胞中胆汁酸代谢、转运相关基因的检测

应用 RNA 提取试剂盒提取肝细胞的总 RNA,并进行逆转录获得 cDNA。使用 SYBR Green 作为荧光染料,进行定量 PCR 研究。通过熔解曲线和琼脂

糖凝胶电泳确证产物的大小和特异性,以 2^{-ΔΔCt} 相对定量法对数据进行分析。测定的目的基因包括:胆固醇 7α-羟化酶(cholesterol 7α-hydroxylase, Cyp7a1)、固醇 12α-羟化酶(sterol 12α-hydroxylase, Cyp8b1) 以及摄取转运体 Na⁺-牛磺胆酸共转运多肽 (Na⁺/taurocholate cotransporting polypeptide, Ntcp)、胆汁酸外排转运体多药耐药相关蛋白 2 (multidrug resistance-associated protein 2, Mrp2)、胆酸盐外排泵(bile salt export pump, Bsep)。引物序列见表 1。

表 1 胆汁酸转运、代谢相关基因的引物序列

Table 1 Primer sequences of bile acid transports and metabolism enzymes

基 因	序列(5'→3')	大小(bp)
Ntcp	CTCACTGTGGAAGCCCAAAG	208
	TCACGATGCTGAGGTTTCATGTC	
Mrp2	ACTTGTGACATCGGTAGCATG	495
	GTGGGCGAACTCGTTTTG	
Bsep	ATGTTGGAACGGAGGAACTG	205
	CCTTCTCGACCCGATATFCA	
Cyp7a1	AAGTGACATCATCCAGTGTTCG	372
	ATGCACTGGATCCTGAAATCT	
Cyp8b1	CAGGGCATGTTGTAGTGGTG	156
	GGTGGCTCTCTCCCTATC	

1.3 统计学方法

结果用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,统计学分析采用 SPSS13.0 统计软件包,采用 One-way ANOVA 单因素方差分析,两两比较采用 Newman-Keuls 法。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 白藜芦醇对 ANIT 致肝损伤模型大鼠血清转氨酶的影响

各组大鼠在给予 ANIT 造模后,血清中 ALT、AST 水平明显升高,与正常组大鼠比较,具有显著性差异 ($P < 0.01$);ANIT+白藜芦醇低剂量组、ANIT+

白藜芦醇高剂量组和 ANIT+思美泰组大鼠血清中 ALT、AST 水平与模型组相比显著下降(表 2)。

2.2 白藜芦醇对 ANIT 致肝损伤模型大鼠血清胆红素的影响

各组大鼠在给予 ANIT 造模后,血清中 TBIL、DBIL、IBIL 水平显著增加,与正常组大鼠相比较,具有显著性差异 ($P < 0.01$);ANIT+白藜芦醇低剂量组、ANIT+白藜芦醇高剂量组和 ANIT+思美泰组大鼠血清中 TBIL、DBIL、IBIL 水平明显降低,与模型组相比具有显著性差异(表 3)。

2.3 白藜芦醇对 ANIT 损伤的原代肝细胞中胆汁排泄的影响

CDF 为带荧光的胆汁酸类似物,被肝细胞摄取后可迅速排入胆小管内,聚集在细胞间的胆小管中^[6]。在含 Ca²⁺、Mg²⁺的条件下,原代肝细胞细胞间的紧密连接保持完整,胆小管保持闭合状态,此时测得的 CDF 荧光值包括细胞内和胆管中的 CDF 总量。而当原代肝细胞与无 Ca²⁺、Mg²⁺的 Hank's 温孵后,紧密连接被打开,胆小管网络被破坏,被肝细胞摄取继而外排到胆小管管腔中的药物释放到细胞上清液中,实测值仅包含细胞内的 CDF 含量。因此,这两个实测值之差等于外排至胆管中的药物量,计算得到 BEI 值达到 53.4%。给予 ANIT (20 μmol/L) 48 h 后, BEI 下降至 22.6%。联合给予白藜芦醇 (10、20、40 μmol/L),可浓度依赖性地增加 BEI 的值(图 1)。

表 2 白藜芦醇对 ANIT 致肝损伤的血清转氨酶的影响

Table 2 Effects of resveratrol on the serum transaminase in ANIT-induced liver injury rats (U/L, n=10)

组 别	ALT	AST
正常组	31.2 ± 6.9	128.7 ± 29.1
ANIT 组	284.1 ± 51.8**	358.2 ± 45.9**
ANIT+白藜芦醇低剂量组	219.1 ± 36.4 [#]	289.1 ± 36.2 [#]
ANIT+白藜芦醇高剂量组	152.9 ± 37.9 ^{##}	216.4 ± 53.7 ^{##}
ANIT+思美泰组	148.1 ± 31.8 ^{##}	208.6 ± 39.7 ^{##}

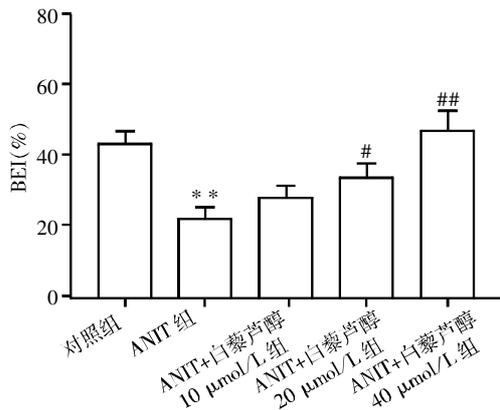
与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与 ANIT 组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ 。

表 3 白藜芦醇对 ANIT 致胆汁淤积性黄疸血清胆红素的影响

Table 3 Effects of resveratrol on the serum bilirubin in ANIT-induced cholestatic jaundice rats (mg/L, n=10)

组 别	TBIL	DBIL	IBIL
正常组	2.38 ± 1.55	1.83 ± 0.45	0.55 ± 0.13
ANIT 组	28.12 ± 5.31**	24.31 ± 4.83**	3.81 ± 0.79**
ANIT+白藜芦醇低剂量组	10.47 ± 2.37 ^{##}	8.37 ± 1.32 ^{##}	2.10 ± 0.56 [#]
ANIT+白藜芦醇高剂量组	6.09 ± 1.24 ^{##}	4.53 ± 1.02 ^{##}	1.56 ± 0.37 ^{##}
ANIT+思美泰组	5.95 ± 1.92 ^{##}	4.85 ± 1.03 ^{##}	1.10 ± 0.21 ^{##}

与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与 ANIT 组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ 。



与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与 ANIT 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ ($n=6$)。

图 1 白藜芦醇对 ANIT 损伤的大鼠原代三明治肝细胞模型上胆管排泄分数 (BEI) 的影响

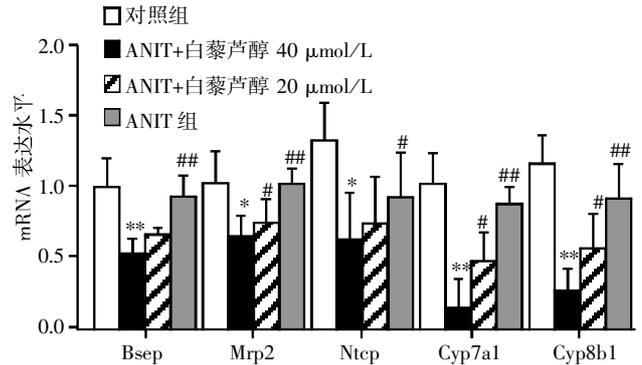
Figure 1 Effects of resveratrol on biliary excretion index (BEI) in rat primary cultured sandwich hepatocyte models injured by ANIT

2.4 白藜芦醇对 ANIT 损伤的原代肝细胞总胆固醇、总胆汁酸和总胆红素水平的影响

给予 ANIT 48 h 后, 总胆固醇降至对照组的 64.7%, 总胆汁酸含量上升至对照组的 1.83 倍, 总胆红素含量上升至对照组的 2.02 倍(表 4)。联合给予白藜芦醇(10, 20, 40 $\mu\text{mol/L}$), 可浓度依赖性地增加细胞内总胆固醇的含量, 降低总胆汁酸和总胆红素的含量。

2.5 白藜芦醇对原代肝细胞胆汁排泄相关转运体和代谢酶的影响

给予 ANIT 可以显著降低 Bsep、Mrp2、Ntcp、Cyp7a1 和 Cyp8b1 的 mRNA 表达; 而给予白藜芦醇



与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 ANIT 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ ($n=6$)。

图 2 白藜芦醇对 ANIT 损伤大鼠原代肝细胞上胆汁排泄相关转运体和代谢酶 mRNA 表达的影响

Figure 2 Effects of resveratrol on the bile acid transports and metabolism enzymes in primary cultured hepatocytes injured by ANIT

(20, 40 $\mu\text{mol/L}$) 可浓度依赖地升高 Bsep、Mrp2、Ntcp、Cyp7a1、Cyp8b1 的 mRNA 表达。

3 讨论

黄疸是肝脏疾病最常见的体征之一, 病因复杂, 可分为 3 大类: 溶血性黄疸、肝细胞性黄疸及胆汁淤积性黄疸。ANIT 是一种间接肝毒剂, 一方面造成肝细胞的急性损伤, 降低其对胆红素的摄取、结合、排泄功能, 造成肝细胞坏死。另一方面损害肝内胆管上皮细胞, 引起毛细血管增生及小叶间胆管周围产生炎症, 最终导致胆管上皮坏死, 脱落而引起胆管阻塞, 形成明显的胆汁排泄障碍, 并伴随以点

表 4 白藜芦醇对 ANIT 损伤的原代肝细胞中胆固醇和胆汁酸含量的影响

Table 4 Effects of resveratrol on cholesterol and bile acid in primary cultured hepatocytes injured by ANIT ($n=5$)

组别	总胆固醇($\mu\text{mol/mg protein}$)	总胆汁酸(nmol/mg protein)	总胆红素($\mu\text{g/mg protein}$)
对照组	2.58 ± 0.65	18.32 ± 2.23	67.12 ± 5.14
ANIT 组	$1.67 \pm 0.41^{**}$	$33.48 \pm 3.74^{**}$	$135.80 \pm 12.16^{**}$
ANIT+白藜芦醇 10 $\mu\text{mol/L}$	1.69 ± 0.32	32.15 ± 3.65	$112.43 \pm 14.08^{\#}$
ANIT+白藜芦醇 20 $\mu\text{mol/L}$	$2.09 \pm 0.42^{\#}$	$25.15 \pm 3.07^{\#\#}$	$105.87 \pm 11.73^{\#\#}$
ANIT+白藜芦醇 40 $\mu\text{mol/L}$	$2.43 \pm 0.52^{\#\#}$	$21.03 \pm 4.21^{\#\#}$	$86.39 \pm 9.69^{\#\#}$

与对照组比较, ** $P < 0.01$; # 与 ANIT 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

状坏死为主的肝实质细胞损害, 产生胆汁淤积性黄疸, 出现高胆红素血症和胆汁分泌减少^[7]。大鼠给予 ANIT 可造成经典的胆汁淤积性黄疸动物模型, 常用于药物的活性评价及黄疸发病机制研究。在该模型上, 本研究证实, 白藜芦醇能显著降低 ANIT 所致血清转氨酶 (AST 和 ALT)、胆红素 (TBIL、DBIL 和 IBIL) 的升高, 显示有确切的保肝退黄作用。

分化良好的原代肝细胞具有多种肝脏特有的功能, 如胆汁酸合成和转运, 糖原、尿素、白蛋白的合成, I 相和 II 相代谢能力及多种药物转运体的表达等, 是体外进行药物药效/毒性评价、代谢和转运的经典模型。特别是“三明治”培养的原代肝细胞可在较长的培养时间内维持细胞活性及肝脏特有的代谢和转运功能, 恢复细胞极性, 细胞之间形成完

整的具有胆汁分泌功能的胆小管网络^[5]。因此,本文选择大鼠原代“三明治”肝细胞模型研究白藜芦醇退黄保肝作用与胆汁酸代谢转运的关系。

CDF 为带荧光的胆汁酸类似物,被肝细胞摄取后可迅速排入胆小管内,可作为反映胆小管分泌功能和胆汁排泄的探针药物^[6]。在三明治模型上,ANIT 显著抑制了胆汁排泄分数 BEI,提示 ANIT 直接诱发了肝实质细胞的活性或功能受损,导致肝细胞内胆汁淤积。而联用白藜芦醇可以显著缓解肝原代细胞内的胆汁淤积,增加胆汁排泄分数。在 ANIT 20 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下原代肝细胞活性并未受到影响,已通过 MTT 和 LDH 的实验证实,因此,本文推测,ANIT 和白藜芦醇对胆汁排泄的影响可能主要是通过影响肝实质细胞本身的胆汁排泄功能。

胆汁 75% 由肝细胞生成。正常情况下,胆汁中各种成分的含量保持着相对稳定,当胆汁中各成分发生较大变化时,就会引起胆道疾病。在体和离体实验中均证实白藜芦醇可以明显降低 ANIT 所致的胆红素升高,具有退黄作用。胆固醇是胆汁酸合成的前体物质,所以本研究测定了细胞内总胆汁酸和总胆固醇含量。结果显示白藜芦醇可浓度依赖性地改善 ANIT 所致的胆固醇-胆汁酸的失衡。

胆固醇-胆汁酸代谢转运的稳态与肝脏胆汁淤积密切相关^[8-9]。肝脏内的胆汁酸一方面由肝内胆固醇经 Cyp7a1、Cyp27a1 和 Cyp8b1 合成^[9];另一方面来源于从血液中的摄取:位于肝细胞窦状隙膜(基底侧)的摄取转运体 Ntcp 可将胆汁酸从血液摄取进入肝细胞^[10]。大部分胆汁酸则通过位于胆管侧膜上的外排转运体分泌到胆管中,主要为 Mrp2 转运葡萄糖醛酸结合和硫酸结合型胆酸^[11-12]、Bsep 转运一价型胆盐^[13-14]。ANIT 可抑制胆汁酸代谢酶 Cyp7a1 和 Cyp8b1,下调摄取转运体 Ntcp、外排转运体 Mrp2 和 Bsep 的表达。外排转运体的下调可直接造成肝细胞的胆汁酸分泌减少、细胞内胆汁酸蓄积增加。而代谢酶和摄取转运体的下调可能是胆汁淤积的反馈调节,以减少胆汁酸的来源。白藜芦醇可以对 ANIT 所致的胆汁酸代谢、排泄稳态进行调节,改善胆汁淤积。

综上,白藜芦醇在体、离体均具有退黄保肝、改善胆汁淤积的作用。其机制可能与其可调节肝细胞上胆汁酸排泄相关代谢酶和转运体的表达,恢复胆固醇-胆汁酸代谢转运的稳态相关。

[参考文献]

- [1] 莫志贤,邵红霞. 白藜芦醇苷体对过氧化氢导致小鼠肝细胞损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报,2000,16(5):519-521
- [2] 黄兆胜,王宗伟,刘明平,等. 虎杖苷对 CCL4 损伤原代培养大鼠肝细胞的保护作用[J]. 中国药理学通报,1998,14(6):543-545
- [3] 江文沁,沈金芳. 白藜芦醇药理活性及作用机制[J]. 药理学进展,2003,27(3):159-162
- [4] Rubiolo JA, Mithieux G, Vega FV. Resveratrol protects primary rat hepatocytes against oxidative stress damage: activation of the Nrf2 transcription factor and augmented activities of antioxidant enzymes [J]. Eur J Pharmacol, 2008,591(1-3):66-72
- [5] Kotani N, Maeda K, Watanabe T, et al. Culture period-dependent changes in the uptake of transporter substrates in sandwich-cultured rat and human hepatocytes [J]. Drug Metab Dispos, 2011,39(9):1503-1510
- [6] Turncliff RZ, Meier PJ, Brouwer KL. Effect of dexamethasone treatment on the expression and function of transport proteins in sandwich-cultured rat hepatocytes [J]. Drug Metab Dispos, 2004,32(8):834-839
- [7] Kobayashi M, Higuchi S, Mizuno K, et al. Interleukin-17 is involved in alpha-naphthylisothiocyanate-induced liver injury in mice [J]. Toxicology, 2010,275(1-3):50-57
- [8] Pauli-Magnus C, Meier PJ. Hepatobiliary transporters and drug-induced cholestasis [J]. Hepatology, 2006,44(4):778-787
- [9] Wang R, Sheps JA, Ling V. ABC transporters, bile acids, and inflammatory stress in liver cancer [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2011,12(4):636-646
- [10] International Transporter Consortium, Giacomini KM, Huang SM, et al. Membrane transporters in drug development [J]. Nat Rev Drug Discov, 2010,9(3):215-236
- [11] Jedlitschky G, Hoffmann U, Kroemer HK. Structure and function of the MRP2 (ABCC2) protein and its role in drug disposition [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2006,2(3):351-366
- [12] Keppler D. The roles of MRP2, MRP3, OATP1B1, and OATP1B3 in conjugated hyperbilirubinemia [J]. Drug Metab Dispos, 2014,42(4):561-565
- [13] Arrese M, Ananthanarayanan M. The bile salt export pump: molecular properties, function and regulation [J]. Pflugers Arch, 2004,449(2):123-131
- [14] Soroka CJ, Boyer JL. Biosynthesis and trafficking of the bile salt export pump, BSEP: therapeutic implications of BSEP mutations [J]. Mol Aspects Med, 2014,37(1):3-14

[收稿日期] 2015-03-27