

论著·实验研究

法尼醇 X 受体在急性淤胆型肝炎大鼠模型中的表达及大黄素的干预作用

丁艳¹ 徐芳¹ 熊小丽¹ 李华蓉²

(1. 武汉市儿童医院内科, 湖北 武汉 430016;
2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染科, 湖北 武汉 430022)

[摘要] **目的** 研究核受体法尼醇 X 受体 (FXR) 在急性淤胆型肝炎大鼠模型中的表达及大黄素的干预作用。**方法** 将 90 只 Sprague-Dawley 成年大鼠随机分为正常对照组、模型组和大黄素干预组, 每组 30 只。模型组和大黄素干预组给予 α -异硫氰酸萘酯 (ANIT) 50 mg/kg 一次灌胃, 建立大鼠淤胆型肝炎动物模型, 正常对照组给予等体积麻油进行替代; 大黄素干预组分别于造模前连续 4 d 及造模后每日给予 20 mg/kg 大黄素灌胃, 直至各组大鼠分别于造模后 24、48、72 h 处死, 模型组和正常对照组给予等体积羧甲基纤维素钠溶液进行替代。实时荧光定量 PCR 法检测肝组织中 FXR mRNA 表达的变化; 全自动生化分析仪检测血清总胆红素 (TB)、直接胆红素 (DB)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 及胆汁酸 (TBA) 的水平。**结果** 造模后各时间点, 模型组肝组织中 FXR mRNA 表达水平均低于正常对照组 (均 $P < 0.05$), 大黄素干预组肝组织中 FXR mRNA 表达水平均高于模型组 (均 $P < 0.05$); 模型组大鼠血清 ALT、TB、DB、TBA 水平在造模后各时间点较对照组均显著增高 (均 $P < 0.05$), 而大黄素干预组大鼠血清 ALT、TB、DB、TBA 水平较模型组均显著降低 (均 $P < 0.05$)。**结论** 大黄素可显著降低 ANIT 诱导的淤胆型肝炎大鼠血清中 TB、DB、ALT、TBA 水平, 其作用机制可能与促进 FXR 表达有关。
[中国当代儿科杂志, 2014, 16(4): 424-429]

[关键词] 法尼醇 X 受体; 大黄素; 淤胆型肝炎; 大鼠

Effect of emodin on expression of farnesoid X receptor in rats with acute cholestatic hepatitis

DING Yan, XU Fang, XIONG Xiao-Li, LI Hua-Rong. Department of Internal Medicine, Wuhan Children's Hospital, Wuhan 430016, China (Email: dingy129@sina.com)

Abstract: Objective To investigate the expression of farnesoid X receptor (FXR) and the effect of emodin on FXR expression in a rat model of acute cholestatic hepatitis. **Methods** Ninety adult Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal control, model, and emodin groups ($n=30$ each). The model and emodin groups were given α -naphthylisothiocyanate (ANIT) 50 mg/kg by gavage to establish an animal model of cholestatic hepatitis, while the normal control group was given an equal volume of sesame oil. The emodin group was given emodin by gavage every day from 4 days before the model was prepared until the time of sacrifice, while the model and normal control groups were given an equal volume of sodium carboxymethyl cellulose solution. At 24, 48 and 72 hours after the model was prepared, serum level of total bilirubin (TB), direct bilirubin (DB), alanine aminotransferase (ALT), and total bile acids (TBA) were measured by Aeroset automatic biochemical analyzer, and the mRNA expression of FXR in the liver tissue was measured by real-time PCR. **Results** At all time points FXR mRNA expression in the model group decreased, but serum levels of TB, DB, ALT and TBA increased significantly compared with the normal control group ($P < 0.05$). The emodin group had significantly higher mRNA expression of FXR and significantly lower serum levels of TB, DB, ALT, and TBA compared with the model group ($P < 0.05$). **Conclusions** Emodin can significantly reduce serum levels of TB, DB, ALT, and TBA in rats with ANIT-induced cholestatic hepatitis, probably by promoting FXR expression.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(4): 424-429]

Key words: Farnesoid X receptor; Emodin; Cholestatic hepatitis; Rats

[收稿日期] 2013-10-17; [接受日期] 2014-02-21

[基金项目] 湖北省卫生厅青年科技人才项目 (QJX2010-47)。

[作者简介] 丁艳, 女, 博士, 主任医师。

胆汁淤积是指胆汁流的形成和排泄障碍,可由肝细胞或胆管上皮的胆汁分泌障碍或胆汁流的阻断所致,其结果可导致胆汁酸等毒性物质的滞留,引起肝细胞损伤和胆汁淤积性肝病^[1],其机制和胆汁成分的合成、分泌、解毒和转运等方面关系密切^[2]。发生在婴儿(包括新生儿)期称婴儿胆汁淤积。引起婴儿胆汁淤积的主要原因是婴儿肝炎综合征(infantile hepatitis syndrome, IHS),若不及时进行有效治疗可发展为胆汁性肝硬化,最终因肝功能衰竭或合并肺炎而死亡,严重影响婴儿的生存质量甚至威胁生命^[3-4]。目前临床上治疗胆汁淤积的常用药物包括熊去氧胆酸(UDCA)和皮质激素,但其治疗疗效尚不满意^[5]。中药大黄已应用于临床治疗肝内胆汁淤积。大黄素(6-甲基-1,3,8-三羟基蒽醌)是大黄中分离出来的主要有效单体,具有肝保护作用及抗炎、抗病毒、抑菌、免疫调节、促进胃肠蠕动、抗氧化、清除自由基、改善微循环等药理作用^[6-10]。前期研究已证实大黄素具有治疗 α -异硫氰酸萘酯(α -naphthylisothiocyanate, ANIT)诱导的急性肝内胆汁淤积性肝损伤作用^[11]。

近期研究发现,核受体法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)是胆汁成分代谢的中心环节,目前被认为是治疗胆汁淤积的关键靶点^[11,12],FXR对胆汁酸的合成、解毒和转运,以及肝纤维化形成等方面均有作用。ANIT诱发肝损伤的生物化学和病理形态学改变与人肝内胆汁淤积性肝病相似,目前为国际公认用来制作淤胆型肝炎动物模型的药物^[13-14],本研究采用ANIT建立急性淤胆型肝炎的动物模型,并以此动物模型研究FXR在淤胆型肝炎肝组织中的表达及大黄的干预作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

健康雄性清洁级Sprague-Dawley(SD)大鼠90只,体重 200 ± 20 g,年龄 6 ± 1 周,购自华中科技大学同济医学院实验动物中心。将动物随机分成正常对照组、模型组和大黄素干预组,各组又依据造模后不同干预时间分为24、48、72h三个亚组,每个亚组10只大鼠,分笼饲养,标准饲料喂养,自由饮水,控制室温 $25 \pm 2^\circ\text{C}$,在开始实验前先适应性喂养3d。

1.2 药物、试剂与仪器

大黄素粉(纯度 $>98\%$,批号:26110401)购于西安崇信天然添加剂有限公司,ANIT购于美国Sigma公司。TRIzol溶液购自美国Invitrogen公司,SYBRGreen I荧光染料购自闪晶生物基因技术公司,逆转录酶和RNA酶抑制剂购自日本Toyobo公司。苏木素购自美国Sigma公司,伊红Y、无水乙醇、盐酸、二甲苯、包埋石蜡、中性树胶均购自国药集团药业股份有限公司。PCR仪为美国Stratagene荧光定量PCR仪(Mx3000P)。血清总胆红素(TB)、直接胆红素(DB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和胆汁酸(TBA)均由美国雅培(Abbott)Aeroset全自动生化分析仪检测。

1.3 药物配制

大黄素粉用羧甲基纤维素钠配成0.4%的悬液,ANIT用麻油配成1%的溶液,均于临用前配制,使用前摇匀。

1.4 给药方法

大黄素干预组给予大黄素 $20\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 灌胃,大黄素剂量参考文献^[11]用药剂量,模型组和正常对照组均给予等体积羧甲基纤维素钠溶液灌胃,以上给药方式连续4d。

1.5 造模方法

除正常对照组外,其他2组均于实验的第5天按文献^[13-14]给予1%ANIT麻油溶液 $50\text{mg}/\text{kg}$ 一次灌胃,灌胃前后12h所有动物均禁食不禁水,以保证所灌药物充分均匀地吸收,正常对照组则只给予等体积麻油灌胃。造模4~6h后大黄素干预组继续给予大黄素 $20\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 灌胃,模型组和正常对照组则仍给予等体积羧甲基纤维素钠溶液灌胃,直至造模后24、48、72h处死相应的动物。

1.6 胆汁引流及标本采集

各组大鼠经6%水合氯醛 $250\text{mg}/\text{kg}$ 腹腔注射麻醉后,逐层剪开腹腔,分离出胆总管,结扎胆囊底部,在胆总管中部剪一“V”型切口,插入引流管(用腰穿管制成),引流1h胆汁,计量并收集1mL。分离腹主动脉,抽取2mL动脉血置促凝管内, $4000\text{r}/\text{min}$ 离心10min,吸出血清, -20°C 冰箱保存待检。抽血后取部分肝组织,生理盐水冲洗,立即放入液氮中保存待检。另取每只大鼠的同一叶肝脏置于4%多聚甲醛液固定48h,脱水后常规石蜡切片。

1.7 病理学检查

取4%多聚甲醛液固定的肝组织,按常规方法脱水、石蜡包埋、4 μm连续切片、苏木精-伊红(HE)染色,每只大鼠取6张切片照相,显微镜下观察肝组织病理变化。

1.8 实时荧光定量PCR检测肝组织FXR mRNA表达

采用TRIzol提取肝组织总RNA。以总RNA为模板,逆转录成cDNA,使用高亲和力双链DNA结合染料SYBR green I在Mx3000P检测系统进行实时荧光定量PCR。FXR引物序列(149 bp):上游:5'-GAGAGATGGGAATGTTGGCTG-3',下游:5'-CTTGCTCGTGGAGGTCACCTT-3';β-actin引物序列(237 bp):上游:5'-TCCTCCCTGGAGAAGAGCTA-3',下游:5'-TCAGGAGGAGCAATGATCTTG-3'。扩增条件:95℃变性30 s,62℃退火40 s,72℃延伸30 s,85℃再延伸8 s,每个循环在85℃时检测荧光强度,共38~40个循环。扩增结束后,将实时定量RT-PCR产物从68℃缓慢而均匀地升温至95℃,温度每升高0.2℃读一次荧光值,每两次读值间隔1 s。对PCR扩增产物定量后分级10倍稀释做标准曲线。FXR mRNA表达水平以其与β-actin的相对表达量来计算。

1.9 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件对数据进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用one-way ANOVA分析,在有差异性的情况下进一步采用SNK-*q*检验行组间两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠生活状态及肝组织肉眼观察情况

正常对照组大鼠有活力,毛发柔顺有光泽,尿色清亮,肝组织表面红润光滑,实施胆汁引流时见胆汁顺利流出;模型组大鼠缺乏活力,毛发凌乱、失去光泽,活动及进食均减少,尿色深黄,肝组织失去红润光滑的外表,部分见黄色结节,24 h时胆汁流量减少,48 h时胆汁流中断,72 h

时胆汁流开始恢复,但仍少于正常,肠管扩张明显,部分见中毒性鼓肠;大黄素干预组大鼠活动及进食均较模型组明显改善,尿色较模型组变浅,肝组织黄色结节减少,48 h时可引流出胆汁,肠管扩张亦减轻。

2.2 各组肝组织病理形态学表现

正常对照组在24、48、72 h时间点肝组织的肝小叶结构完整,肝细胞索排列整齐,肝细胞大小一致,染色均匀,胆管上皮细胞完整,未见中性粒细胞浸润。模型组大鼠造模后24 h肝组织即可见明显病理改变,肝小叶结构破坏,肝细胞广泛水变性和羽毛样变性,汇管区胆管上皮细胞肿胀,可见脱落的胆管上皮细胞及脱落缺陷区,并见明显的中性粒细胞浸润;48 h变化更明显,肝细胞明显肿胀,胞浆疏松,肝细胞核大小不一致,核内染色质聚集,核仁粗大浓染,可见多个点状、灶状坏死区,枯否细胞增生,胆管上皮细胞增生明显,管腔狭窄,腔内可见大量坏死脱落细胞,部分胆管上皮细胞内及胆小管内见胆栓形成,胆管周围有大量中性粒细胞浸润,肝细胞点状、灶状坏死区多局限于胆管周围的肝细胞;72 h时以上病变均减轻,但仍可见坏死灶和中性粒细胞浸润。大黄素干预组在各时间点肝组织病理改变均较模型组明显减轻,中性粒细胞浸润明显减少。见图1。

2.3 各组血清生化指标水平比较

造模干预后各时间点,模型组大鼠血清ALT、TB、DB、TBA水平较对照组均显著增高(均 $P < 0.05$),大黄素干预组大鼠血清ALT、TB、DB、TBA水平均较模型组显著降低(均 $P < 0.05$);除72 h TB水平外,大黄素干预组在其他各时间点ALT、TB、DB、TBA水平仍高于对照组(均 $P < 0.05$)。见表1~3。

2.4 各组肝组织FXR mRNA水平

造模干预后各时间点,模型组大鼠肝组织中FXR mRNA水平较对照组显著降低(均 $P < 0.05$),大黄素干预组大鼠肝组织中FXR mRNA水平较模型组显著升高(均 $P < 0.05$);除72 h外,大黄素干预组在24 h和48 h FXR mRNA水平仍低于对照组(均 $P < 0.05$)。见表1~3。

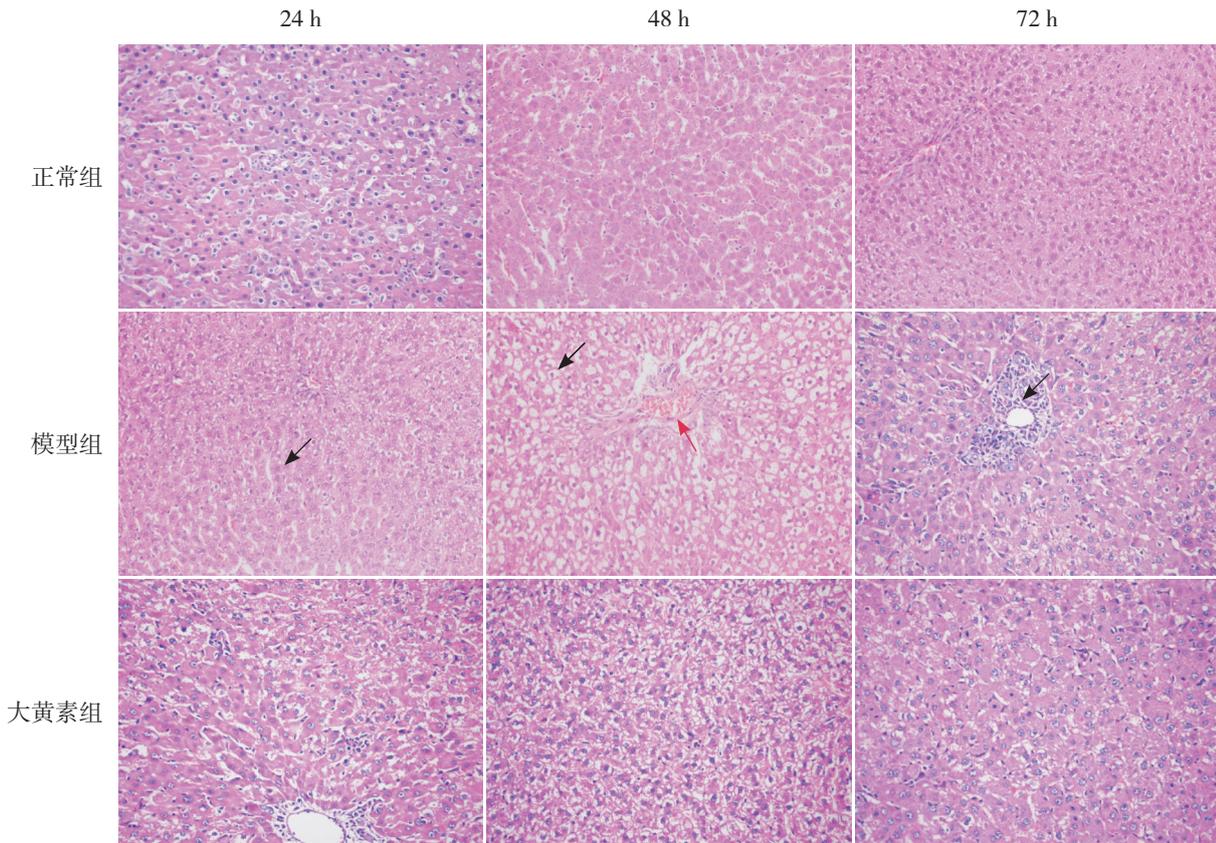


图1 各时间点各组大鼠肝组织病理形态学表现(苏木精-伊红染色, ×400) 正常对照组各时间点肝小叶结构完整,肝细胞索排列整齐,肝细胞大小一致。模型组24h肝小叶结构破坏,肝细胞广泛水变性(箭头所示),并见中性粒细胞浸润;48h肝细胞变性较24h更严重,见气球样变(黑色箭头所示)和灶状坏死区(红色箭头所示);72h肝细胞病变开始恢复,胆管上皮细胞增生(箭头所示)。大黄素组各时间点肝细胞病变均较模型组减轻。

表1 24h各组血清生化指标水平及肝组织 FXR mRNA 表达变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	ALT (U/L)	TB ($\mu\text{mol/L}$)	DB ($\mu\text{mol/L}$)	TBA ($\mu\text{mol/L}$)	FXR mRNA
对照组	10	42 ± 7	7.3 ± 2.5	2.6 ± 0.8	26 ± 8	0.75 ± 0.21
模型组	10	397 ± 63 ^a	43.5 ± 5.9 ^a	36.2 ± 4.9 ^a	217 ± 58 ^a	0.42 ± 0.14 ^a
大黄素组	10	309 ± 49 ^{a,b}	29.8 ± 4.6 ^{a,b}	23.0 ± 5.2 ^{a,b}	156 ± 53 ^{a,b}	0.59 ± 0.11 ^{a,b}
F 值		159.067	161.072	166.315	46.247	11.117
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: a 为与对照组比较, $P < 0.05$; b 为与模型组比较, $P < 0.05$ 。

表2 48h各组血清生化指标水平及肝组织 FXR mRNA 表达变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	ALT (U/L)	TB ($\mu\text{mol/L}$)	DB ($\mu\text{mol/L}$)	TBA ($\mu\text{mol/L}$)	FXR mRNA
对照组	10	47 ± 8	7.5 ± 2.7	2.4 ± 0.7	27 ± 8	0.74 ± 0.22
模型组	10	818 ± 138 ^a	92.0 ± 27.6 ^a	73.6 ± 17.0 ^a	219 ± 36 ^a	0.28 ± 0.08 ^a
大黄素组	10	647 ± 98 ^{a,b}	58.5 ± 16.8 ^{a,b}	47.3 ± 19.1 ^{a,b}	133 ± 46 ^{a,b}	0.45 ± 0.14 ^{a,b}
F 值		172.342	73.545	59.431	80.914	21.087
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: a 为与对照组比较, $P < 0.05$; b 为与模型组比较, $P < 0.05$ 。

表3 72 h 各组血清生化指标水平及肝组织 FXR mRNA 表达变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	ALT (U/L)	TB ($\mu\text{mol/L}$)	DB ($\mu\text{mol/L}$)	TBA ($\mu\text{mol/L}$)	FXR mRNA
对照组	10	48 \pm 9	7.6 \pm 2.8	2.8 \pm 0.8	26 \pm 7	0.76 \pm 0.21
模型组	10	432 \pm 93 ^a	38.1 \pm 13.3 ^a	27.7 \pm 8.6 ^a	79 \pm 29 ^a	0.45 \pm 0.14 ^a
大黄素组	10	188 \pm 54 ^{ab}	9.5 \pm 3.2 ^b	7.6 \pm 2.4 ^{ab}	49 \pm 11 ^{ab}	0.66 \pm 0.18 ^b
F 值		97.136	44.925	65.148	21.821	7.880
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002

注: a 为与对照组比较, $P < 0.05$; b 为与模型组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

胆汁淤积是一种临床综合征, 常见于 IHS 等疾病中, 若不及时进行有效治疗, 将导致肝硬化等严重后果^[3]。目前临床上治疗胆汁淤积的常用药物包括 UDCA 和皮质激素^[5], 但其治疗疗效尚不满意, 且 UDCA 起效缓慢, 较为昂贵, 而皮质激素具有免疫抑制副作用, 使这两种药物的使用受到很大限制^[15]。因此, 探索高效、低毒、价廉的胆汁淤积治疗药物十分必要。

中药大黄具有增加胆红素排出肠道、减少胆红素重吸收、促进胆汁分泌、保护肝细胞等作用, 因此, 大黄已应用于临床治疗肝内胆汁淤积。但大黄为中草药复合物, 含有多种成分, 其作用机制不易阐明, 因此有必要对大黄中的有效单体进行进一步的研究以明确其作用机制, 从而进一步提高疗效、降低副作用。大黄素是大黄中分离出来的主要有效单体, 研究证实它具有肝保护作用及抗炎、抗病毒、抑菌、免疫调节、促进胃肠蠕动、抗氧化、清除自由基、改善微循环等药理作用^[6-10], 为进一步探讨大黄素治疗淤胆型肝炎的作用及其机制奠定了基础。前期研究已证实大黄素可通过抗炎机制发挥对肝细胞的保护效应对淤胆型肝炎的治疗作用, 这种作用主要是通过拮抗促炎细胞因子和介质、抑制氧化应激损伤、改善肝脏微循环、减少损伤信号、抑制中性粒细胞浸润等来实现的^[11]。本实验在此基础上进一步研究大黄素对 FXR 的作用, 以进一步探讨 FXR 在淤胆型肝炎中的表达及大黄素的药理作用机制。ANIT 诱发动物肝损伤的生物化学和病理形态学改变与人肝内胆汁淤积性肝病相似^[13-14], 常被用来制作淤胆型肝炎的动物模型, 而且 ANIT 在动物体内引起胆汁淤积是可重复的, 并呈剂量依赖性, 从 1962 年开始, 就被广泛用于诱导肝内胆汁淤积的动物模型^[13],

本实验通过建立此动物模型进行研究。

FXR 是核受体超家族成员之一, 因其可以被生理水平的法尼醇激活而得名, 是一种胆汁酸受体, 在肝脏、胆囊、胃肠道、肾上腺和肾脏均有高度表达。FXR 由人的常染色体基因编码, 具有核受体的典型结构, 即包括氨基末端高度保守的 DNA 结合区 (DBD)、配体非依赖性转录激活功能区 (AF-1)、羧基末端配体结合区 (LBD) 及配体依赖性功能区 (AF-2)。FXR 的配体与 LBD 结合后, 使核受体的空间构型发生改变, 进而与视黄醛衍生物受体 (RXR) 形成异源二聚体, 直接和特定的 DNA 反应元件结合, 从而调节基因的转录。FXR 与胆汁酸结合后调节胆汁酸代谢, 维持胆汁酸稳态。实验证明, FXR 对胆汁酸的合成、解毒和转运, 以及肝纤维化形成等方面均有作用: FXR 能够通过小异源二聚体伴侣受体 (small heterodimer partner, SHP) 抑制胆汁酸的合成, 诱导肝内胆汁酸的解毒效应, 诱导小胆管胆汁酸的排泄, 增加胆汁的流动, 增加胆汁中磷脂的含量, 通过 SHP 和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ) 抑制肝纤维化的形成^[16-18]。使用 FXR 的激动剂, 如 GW4064、6-ECDCA 等可以明显降低雌二醇诱导的胆汁淤积中肝细胞摄取胆盐, 并能恢复胆汁流动, 降低血清淤胆指标。因此, 核受体 FXR 目前被认为处于胆汁淤积治疗的枢纽地位^[19], FXR 受到激动后, 介导多种抑制胆汁淤积的通路。

本实验结果发现, 大黄素可降低淤胆型肝炎的 ALT、TB、DB、TBA 水平, 并可显著减轻肝组织病理损伤, 淤胆型肝炎模型组肝组织中 FXR mRNA 表达显著降低, 大黄素则可促进 FXR mRNA 的表达。本研究进一步证实, 大黄素的肝保护作用, 除了抗炎机制外, 其对淤胆型肝炎的

治疗作用还可通过促进 FXR mRNA 表达来发挥。

本研究初步探讨了大黄素对处于胆汁淤积枢纽地位的 FXR 的作用,在胆汁酸合成通路中,SHP 介导的抑制通路是 FXR 信号下传的关键分子,与 FXR 呈配体关系;在胆汁酸解毒通路中,UGT2B4 接受来自于 FXR 的影响,下传 FXR 的解毒信号;而在胆汁酸转运过程中,BSEP 激动后发挥胆汁成分的转运作用,主要受到 FXR 的调控。因此对处于 FXR 下游的其他胆汁淤积相关分子的变化仍需进一步的研究。

[参 考 文 献]

- [1] Wagner M, Zollner G, Trauner M. New molecular insights into the mechanisms of cholestasis[J]. *J Hepatol*, 2009, 51(3): 565-580.
- [2] Hirschfield GM, Heathcote EJ. Cholestasis and cholestatic syndromes[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2009, 25(2): 175-179.
- [3] Ding Y, Zhao L, Mei H, et al. Alterations of biliary biochemical constituents and cytokines in infantile hepatitis syndrome[J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(43): 7038-7041.
- [4] 唐清,王琳琳,单庆文,等.熊去氧胆酸对婴儿胆汁淤积性肝炎多药耐药蛋白3及法尼醇受体基因表达的影响和意义[J]. *中国当代儿科杂志*, 2013, 15(9): 756-758.
- [5] Poupon R. Ursodeoxycholic acid and bile-acid mimetics as therapeutic agents for cholestatic liver diseases: an overview of their mechanisms of action[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2012, 36(Suppl 1): S3-S12.
- [6] Li HL, Chen HL, Li H, et al. Regulatory effects of emodin on NF-kappaB activation and inflammatory cytokine expression in RAW 264.7 macrophages[J]. *Int J Mol Med*, 2005, 16(1): 41-47.
- [7] Koyama J, Inoue M, Morita I, et al. Correlation between reduction potentials and inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation by emodin derivatives[J]. *Cancer Lett*, 2006, 241(2): 263-267.
- [8] Ho TY, Wu SL, Chen JC, et al. modin blocks the SARS coronavirus spike protein and angiotension-converting enzyme 2 interaction[J]. *Antiviral Res*, 2007, 74(2): 92-101.
- [9] Ghosh S, Das Sarma M, Patra A, et al. Anti-inflammatory and anticancer compounds isolated from *Ventilago madraspatana* Gaertn, *Rubia cordifolia* Linn and *Lantana camara* Linn[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2010, 62(9): 1158-1166.
- [10] Zhang HQ, Zhou CH, Wu YQ. Effect of emodin on small intestinal peristalsis of mice and relevant mechanism[J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(20): 3147-3150.
- [11] Ding Y, Zhao L, Mei H, et al. Exploration of Emodin to treat alpha-naphthylisothiocyanate- induced cholestatic hepatitis via anti-inflammatory pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 590(1-3): 377-386.
- [12] Sturm E, Wagner M, Trauner M. Nuclear receptor ligands in therapy of cholestatic liver disease[J]. *Front Biosci*, 2009, 14: 4299-4325.
- [13] Goldfarb S, Singer EJ, Popper H. Experimental cholangitis due to alpha-naphthylisothiocyanate(ANIT)[J]. *Am J Pathol*, 1962, 40: 685-698.
- [14] Hillstrom J, Duane WC, Eckfeldt JH, et al. Lack of benefit of ursodeoxycholic acid in drug-induced cholestasis in the rat[J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1992, 200(1): 122-126.
- [15] Carey EJ, Lindor KD. Current pharmacotherapy for cholestatic liver disease[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2012, 13(17): 2473-2484.
- [16] Wang YD, Chen WD, Moore DD, et al. FXR: a metabolic regulator and cell protector[J]. *Cell Res*, 2008, 18(11): 1087-1095.
- [17] Fiorucci S, Mencarelli A, Distrutti E, et al. Targetting farnesoid-X-receptor: from medicinal chemistry to disease treatment[J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17(2): 139-159.
- [18] Zhang Y, Edwards PA. FXR signaling in metabolic disease[J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(1): 10-18.
- [19] Zollner G, Trauner M. Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases[J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 156(1): 7-27.

(本文编辑: 冯丹丹)