

## 法尼酯衍生物X受体在梗阻性黄疸中的作用及分子机制的研究进展

谭用, 毕伟, 张桂信

### ■背景资料

梗阻性黄疸是临床常见病和多发病, 严重时导致肝功能异常而并发肝性脑病、肝衰竭、毒血症、中枢神经系统受抑等并发症。近年, 胆汁酸受体在梗阻性黄疸中的作用受到人们的重视, 法尼酯衍生物X受体(farnesoid X receptor, FXR)作为胆汁酸特异性核受体, 在胆汁酸代谢和梗阻性黄疸中起着重要作用。

谭用, 毕伟, 张桂信, 大连医科大学附属第一医院腹部急症外科 辽宁省大连市 116011

谭用, 大连医科大学研究生院 辽宁省大连市 116044

谭用, 主要从事胆胰疾病发病机制与治疗的研究。

国家自然科学基金青年基金资助项目, No. 81303110

国家教育部博士学科点专项科研基金资助项目, No. 20112105120007

作者贡献分布: 本文综述由谭用完成; 毕伟与张桂信共同审校。

通讯作者: 张桂信, 副教授, 硕士生导师, 116011, 辽宁省大连市中山路222号, 大连医科大学附属第一医院腹部急症外科。  
zgxd0109@126.com

电话: 0411-83635963

收稿日期: 2015-03-24 修回日期: 2015-05-04

接受日期: 2015-05-07 在线出版日期: 2015-06-08

### Role and molecular mechanism of farnesoid X receptor in obstructive jaundice

Yong Tan, Wei Bi, Gui-Xin Zhang

Yong Tan, Wei Bi, Gui-Xin Zhang, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China

Yong Tan, Graduate School, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81303110; and the Ph. D. Programs Foundation of Ministry of Education of China, No. 20112105120007

Correspondence to: Gui-Xin Zhang, Associate Professor, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 222 Zhongshan Road, Dalian 116011, Liaoning Province, China. zgxd0109@126.com

Received: 2015-03-24 Revised: 2015-05-04

Accepted: 2015-05-07 Published online: 2015-06-08

### Abstract

Obstructive jaundice is a common and frequently

occurring disease, which can result in multiple organ dysfunction syndrome in serious conditions due to the abnormal accumulation of bile acids in blood. Farnesoid X receptor (FXR), a nuclear receptor for bile acid, plays a significant role in bile acid metabolism. Recent research demonstrates that FXR also participates in the regulation of the pathological and physiological processes during obstructive jaundice. In this article, we review the latest research about the role and molecular mechanism of FXR in obstructive jaundice, in order to explore new methods and strategies for curing the disease.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Bile acid; Farnesoid X receptor; Obstructive jaundice

Tan Y, Bi W, Zhang GX. Role and molecular mechanism of farnesoid X receptor in obstructive jaundice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(16): 2574-2581 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2574.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i16.2574>

### 摘要

梗阻性黄疸是临床常见病和多发病, 严重时因胆汁酸淤积入血而造成多脏器功能障碍。法尼酯衍生物X受体(farnesoid X receptor, FXR)是胆汁酸的核受体, 在胆汁酸代谢中起到重要作用。近年来研究证明, FXR还参与梗阻性黄疸时对机体功能和病理损伤的调节。本文综述FXR在梗阻性黄疸中的作用和分子机制的最新研究进展, 以期

### ■同行评议者

刘金钢, 教授, 博士生导师, 中国医科大学附属盛京医院外科

为梗阻性黄疸的治疗探索新的方法和途径。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胆汁酸; 法尼酯衍生物X受体; 梗阻性黄疸

**核心提示:** 梗阻性黄疸不仅仅指胆道阻塞引起的黄疸, 还应包括各种原因引起的胆汁酸转运蛋白表达异常或功能障碍引起的黄疸。梗阻性黄疸时机体通过影响胆汁酸转运蛋白表达, 产生代偿性改变, 延缓病情的进展。本文综述了法尼酯衍生物X受体(farnesoid X receptor)在胆汁酸代谢及梗阻性黄疸时反馈调节胆汁酸代谢保护肝细胞、抑制肠道细菌增殖、移位等重要作用, 以期为临床治疗提供新的思路。

谭用, 毕伟, 张桂信. 法尼酯衍生物X受体在梗阻性黄疸中的作用及分子机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(16): 2574-2581 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/2574.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i16.2574>

## 0 引言

梗阻性黄疸是因肝内、外胆管的机械性因素(如结石、肿瘤、炎症、寄生虫、先天性畸形及药物等)造成胆管阻塞、胆汁淤积, 引起胆汁酸代谢紊乱, 导致全身多个系统的病变。近年来认为各种原因导致胆汁酸转运蛋白表达异常, 即使没有胆道的梗阻, 但生化检查及临床表现均与梗阻性黄疸一样也称为梗阻性黄疸<sup>[1]</sup>。总结发现胆汁酸核受体即法尼酯衍生物X受体(farnesoid X receptor, FXR)在胆汁酸代谢中起着重要作用, 并认为在梗阻性黄疸中由于淤积的胆汁作用于FXR刺激机体产生代偿性防御反应, 可改善临床症状。最近的研究<sup>[2]</sup>证明FXR在梗阻性黄疸患者中起到重要作用, 并试图研究出作用于FXR的靶向药物来改善甚至治疗梗阻性黄疸的患者, 为梗阻性黄疸的治疗提供新前景。

## 1 胆汁酸的合成及代谢

胆汁酸是胆固醇代谢的最终产物, 胆固醇在肝脏经过一系列的化学反应转化为胆汁酸, 然后经胆管排入到胆囊并储存和浓缩, 进食后胆囊收缩排入肠腔, 再经回肠末端重吸收, 通过门静脉返回到肝脏, 再次合成胆汁酸随新胆汁排入肠腔。胆汁酸在人体内的合成有两条途径, 分别是经典合成途径和替代合成途径, 其中以

经典途径为主(约占90%)。经典途径是指胆固醇在肝脏经胆固醇7 $\alpha$ -羟化酶(cholesterol-7 $\alpha$ -hydroxylase, CYP7A1)催化生产7 $\alpha$ -羟胆固醇, 再经一系列的酶联反应最终生成胆酸(cholic acid, CA)和鹅脱氧胆酸(chenodeoxycholic acid, CDCA), 其中CYP7A1是这个途径的关键酶。替代途径是胆固醇经甾醇27 $\alpha$ -羟化酶起始生成27 $\alpha$ -羟胆固醇, 再通过一系列酶促反应生成鹅脱氧胆酸。

胆汁酸在肝脏合成之后, 激活FXR诱导胆汁盐输出泵(bile salt export pim, BSEP)的表达, 分泌胆汁酸到胆汁中, 同时与胆固醇、卵磷脂经肝内胆管排入胆囊并储存。当进食后, 胆囊收缩将胆汁排入小肠, 进入肠腔的胆酸在肠道细菌的作用下经脱酰胺作用及7 $\alpha$ -脱羟基作用转变为脱氧胆酸(deoxycholic acid, DCA)和石胆酸(lithocholic acid, LCA)。游离的胆汁酸通过扩散作用在肠道各个部位被动重吸收。结合胆汁酸在回肠通过小肠刷状缘表面的依赖钠离子胆汁酸转运体(apical sodium-dependent bile salt transporter, ASBT)被主动重吸收入小肠黏膜细胞, 通过激活FXR诱导回肠胆汁酸结合蛋白(intestine bile acid binding protein, IBABP)的表达, 并与之结合。然后通过小肠黏膜细胞的基底膜表面上有机溶质转运体(organic solute transporter, OST $\alpha/\beta$ )将胆汁酸从肠上皮细胞转运入门静脉, 并随之回流到肝脏<sup>[3]</sup>。肝细胞基底外侧膜牛磺胆酸钠协同转运蛋白(taurocholate cotransporter, NTCP)主要吸收结合的胆汁酸, 有机阴离子运输肽(organic anion transporting peptide, OATPs)主要吸收非结合的胆汁酸<sup>[4]</sup>, 重新合成新的胆汁酸再分泌, 每天重复这个过程多次。大约5%的胆汁酸随粪便排出体外, 失去的胆汁酸由胆固醇在肝脏内合成补充<sup>[5]</sup>。

## 2 FXR

FXR是孤儿核受体家族的成员, 最早由Forman等<sup>[6]</sup>于1995年在小鼠肝脏cDNA文库中克隆发现, 因其转录活性可被超生理浓度的法尼酯增强而命名。FXR主要表达在肝脏、小肠、肾脏和肾上腺等组织<sup>[7]</sup>, 在心脏、卵巢、胸腺、脾脏和睾丸也有低水平表达。近年来, 随着FXR内源性配体和FXR分子结构与功能研究的进展, 人们对FXR生物学功能有了深入的了解。FXR作为一种胆汁酸激活的核受体, 参与机体

## ■ 研究前沿

FXR在胆汁酸代谢中的作用机制及其在肝胆系统疾病中的意义是当前国内外研究的热点。目前研究认为, FXR的表达同梗阻性黄疸病情严重程度相关, FXR表达增强可改善病情。FXR激动剂用于临床治疗的有效性及可能的不良反应有待进一步深入研究。

## ■ 相关报道

2013年Hyder等认为, 胆汁内引流能增加肠FXR的表达, 抑制肠道细菌的繁殖, 维持肠黏膜的完整性, 减少肠源性感染和内毒素血症的发生, 为临床治疗梗阻性黄疸的手术方式选择提供了新的理论依据。

多种生理活动的调节, 包括胆汁酸代谢、脂代谢、糖代谢等过程。

**2.1 FXR的结构** FXR是激素核受体家族中的一员, 具有典型的核受体结构, 即包括氨基末端高度保守的DNA结合域(DNA-binding domain, DBD)、配体非依赖性转录激活功能区(activation function-1, AF-1)、羧基末端配体结合域(ligand-binding domain, LBD)以及羧基末端配体依赖性激活功能区(activation function-2, AF-2)。与其他核受体家族成员一样, 位于FXR的DBD区内有与DNA直接结合和二聚化有关的2个半胱氨酸协调的锌指结构<sup>[8]</sup>。

FXR基因包含76997个碱基, 11个外显子(大小100-572 bp)和10个内含子(大小328-16338 bp)。研究<sup>[9]</sup>证明鼠类FXR有四种亚型, 并且由同一基因编码合成这4种亚型, 即FXR $\alpha$ 1、FXR $\alpha$ 2、FXR $\beta$ 1和FXR $\beta$ 2。FXR $\alpha$ 转录来源于外显子1, FXR $\beta$ 转录来源于外显子3, 但是FXR $\alpha$ 和FXR $\beta$ 共同享有外显子4-11, 因此FXR $\beta$ 的转录产物比FXR $\alpha$ 少187个碱基, 但是最后翻译合成的蛋白质的氨基末端FXR $\beta$ 比FXR $\alpha$ 多37个氨基酸。FXR $\alpha$ 1和FXR $\beta$ 1在临近DNA结合区的铰链区有由4个氨基酸(12 bp)组成的插入序列, 可以影响FXR与DNA的结合以及FXR在视黄醛受体(retinoid X receptor, RXR)反应元件上与RXR二聚化的能力。所以, FXR在结合了配体之后将与RXR结合形成异源二聚体之后才能作用于靶基因启动子的反向重复序列(inverted repeats-1, IR-1)激活转录。研究<sup>[10,11]</sup>证明缺乏RXR, FXR单体与DNA结合不能激活转录, FXR $\alpha$ 2、FXR $\beta$ 2比FXR $\alpha$ 1、FXR $\beta$ 1在与FXR反应元件结合时具有更高的亲和力<sup>[9]</sup>。

**2.2 FXR的配体** 有研究<sup>[7]</sup>将人或鼠类表达FXR的重组质粒转入猴的肾CV-1细胞、人肝癌细胞HepG2细胞。并将这些细胞通过一系列胆汁酸代谢产物的处理以及为了使荧光酶基因表达而部分被屏蔽, 发现FXR的靶基因含有多种IR-1能与FXR/RXR异源二聚体结合, 证明胆汁酸是FXR的内源性配体, 能强烈地激活FXR来调控体内基因的表达。其中初级胆汁酸CDCA激活FXR的能力最强, 次级胆汁酸LCA和DCA轻微的激活FXR。最近有实验通过体外辅激活蛋白测定法以及FXR转录激活BSEP促进荧光酶生成测定法证明不同胆汁酸与FXR亲和力的强弱不同: CDCA>DCA>CA, 其中CDCA与

FXR的亲和力最强<sup>[8]</sup>。有趣的是, LCA对FXR的激活作用很弱, 但却能强烈地抑制CDCA激活FXR<sup>[12]</sup>。

**2.3 FXR的靶基因** 目前的研究证明FXR主要的靶基因有: *CYP7A1*、*BSEP*、*IBABP*、*NTCP*、*LRH-1*、*HNF4*、*PLTP*、*apoC2*、*SHP*、*FGF19*等基因<sup>[13]</sup>。FXR活化以FXR/RXR异源二聚体形式与这些靶基因启动子序列上IR-1结合从而激活这些基因的表达实现对机体代谢的调节。

**2.4 FXR与梗阻性黄疸** 肝内、外胆管阻塞, 导致胆汁、胆红素淤积引起梗阻性黄疸。最近研究<sup>[14]</sup>表明肝表面与胆汁酸转运有关的运载体功能障碍以及调控转运体表达的FXR的缺乏都能导致胆汁淤积引起梗阻性黄疸。PFIC一种常染色体隐性遗传病, 就是由于基因突变使FXR表达降低及胆汁转运体(BSEP等)功能障碍, 导致肝内胆汁淤积, 表现为反复瘙痒、黄疸等症状。Sinal等<sup>[15]</sup>实验发现FXR敲除的小鼠血清胆汁酸、胆固醇升高, 粪便中胆汁酸代谢物排出减少, 类似于梗阻性黄疸的表现。

## 3 FXR在梗阻性黄疸的作用

**3.1 FXR调节胆汁代谢** 梗阻性黄疸时过量的胆汁酸将通过与FXR结合调控一系列有关胆汁酸代谢的转运体及酶的表达, 调控胆汁酸的合成及分泌。淤积的胆汁激活FXR, 抑制胆汁酸的合成, 从而减缓胆汁淤积的状况。目前已知, 通过FXR-SHP及FXR-成纤维细胞生长因子15/19(fibroblast growth factor 15/19, FGF15/19)途径抑制CYP7A1的表达, 减少胆汁酸的合成。

*CYP7A1*基因启动子序列中没有FXR靶基因典型的IR-1序列, 说明FXR/RXR并非直接结合在*CYP7A1*基因抑制其转录<sup>[16]</sup>。据实验<sup>[17]</sup>证明, FXR/RXR复合体通过结合在*SHP*基因的启动子, 促进SHP的转录。*SHP*与*CYP7A1*基因启动子LRH-1结合形成一个抑制性复合物, 结合在*CYP7A1*基因启动子序列的负性反应元件, 抑制*CYP7A1*基因的表达, 减少胆汁酸的合成。Kerr等<sup>[18]</sup>及Boulias等<sup>[19]</sup>实验证明敲除了*SHP*基因的小鼠CYP7A1表达增加, 将*SHP*基因转入到*SHP*缺乏的小鼠表现为*CYP7A1*表达的减少, 证明SHP抑制CYP7A1的表达。最近研究<sup>[20]</sup>发现给小鼠予以FXR激动剂GW4064喂养后, 小肠FGF15表达增加, 同时检测到SHP在肝内



和小肠中的表达也增加, 而肝内CYP7A1的表达明显受到抑制。FGF15基因敲除的小鼠表现为肝CYP7A1基因mRNA增加、CYP7A1酶活性的增强以及粪胆汁酸排泄增加。证明FGF15是FXR调控胆汁酸合成代谢信号通路的一个重要信号分子。人体内有与小鼠FGF15具有相同作用的FGF19。在培养的肝细胞中, FXR能直接诱导FGF19的转录, 通过FGFR4细胞表面受体酪氨酸激酶发出信号, 激活细胞内c-Jun氨基端激酶途径(JNK)抑制CYP7A1的表达<sup>[21]</sup>。另外, 有实验证明FGF19通过有丝分裂原激活蛋白激酶/细胞外信号调控激酶(MAPK-ERK)抑制蛋白酶体的降解, 增强SHP的稳定性抑制CYP7A1的表达<sup>[22]</sup>。

BSEP在胆汁酸的排出过程中具有重要作用, BSEP功能的破坏伴随着肝内胆胆汁酸内环境稳定的改变, 导致胆汁淤积。实验证明某些药物能通过破坏或抑制BSEP来诱导胆汁淤积<sup>[23]</sup>。Ananthanarayanan等<sup>[24]</sup>通过克隆人的BSEP基因, 发现其启动子上有FXR反应元件(IR-1), FXR直接与IR-1结合促进BSEP的表达。各种原因引起胆汁淤积, 淤积的胆汁(尤其是CDCA)与FXR结合触发BSEP的表达, 从而促进胆汁酸排泄, 减轻肝脏内胆胆汁淤积。

胆汁酸在肠道的重吸收主要依赖3种重要的转运蛋白-ASBT、IBABP、OST $\alpha/\beta$ 。在人体内, ASBT的缺乏导致严重的胆汁酸吸收不良。通过给小鼠喂FXR的配体如CA、CDCA, 发现小鼠体内ASBT蛋白的减少。然而, 给FXR基因敲除的小鼠喂胆汁酸, ASBT的表达并没有改变, 说明FXR是肠内ASBT的负性调节蛋白, 胆汁酸激活FXR抑制ASBT的表达。最近研究<sup>[25]</sup>证明, FXR通过激活SHP, 由SHP抑制LRH-1、RAR/RXR阻遏ASBT基因的正向表达。另外, 其他研究表明FGF19可能通过作用于LRH-1顺式元件, 影响FXR/SHP途径抑制ASBT的活化<sup>[26]</sup>。IBABP在胆汁酸的肠肝循环中起到重要作用。给人Caco-2细胞予以胆汁酸处理能激活FXR诱导IBABP基因表达。活体小鼠研究进一步表明考来烯胺(消胆胺)及FXR基因敲除都表现为IBABP表达水平明显下降<sup>[27]</sup>。表达于回肠、肾, 肠上皮细胞基底部的OST $\alpha/\beta$ 将重吸收的胆汁酸转入门静脉。通过结扎小鼠的胆管模拟梗阻性黄疸以及胆汁性肝硬化的患者, 发现两者的OSTOST $\alpha/\beta$ 的表达明显升高, 但是

FXR基因敲除的小鼠结扎胆管后OSTOST $\alpha/\beta$ 表达并未增加, 甚至降低。随后给予CDCA处理后OST $\alpha/\beta$ 的表达增加, 说明胆汁淤积时激活FXR促进OST $\alpha/\beta$ 的表达<sup>[8,27]</sup>。另外, OST $\alpha/\beta$ 也表达在肾脏, 当胆汁淤积激活FXR不仅促进肝OST $\alpha/\beta$ 表达将胆汁酸排入血液循环, 而且激活肾FXR促进肾OST $\alpha/\beta$ 的表达将胆汁酸从尿液排出<sup>[28]</sup>。临床上也发现, 胆汁淤积的患者尿液中有亲水的四羟基胆汁酸。认为肾脏排泄是胆汁淤积患者胆汁酸最主要的排泄途径<sup>[29]</sup>。

肝细胞基底外侧膜上的NTCP、OATPs从门静脉中摄取胆汁酸进入肝脏。在胆汁淤积肝损伤的小鼠模型中, 机体为避免胆汁酸的积累使NTCP、OATPs的表达明显减少。研究证明淤积的胆汁酸通过激活FXR诱导SHP抑制NTCP、OATPs的表达<sup>[30]</sup>。Maeda等<sup>[31]</sup>对野生小鼠和FXR基因敲除的小鼠分别给予等量的胆汁酸后, 发现前者OATP1降低, 而后者OATP1明显升高, 说明胆汁酸通过作用于FXR抑制OATP1表达。近期也有研究表明CDCA或GW4064激活FXR后诱导SHP表达抑制糖皮质激素受体的表达阻遏NTCP基因的转录激活<sup>[32]</sup>。

总之, 胆汁淤积时将激活FXR受体, 通过抑制CYP7A1、NTCP、OATPs、ASBT, 促进BSEP、IBABP、OST $\alpha/\beta$ 的表达从而抑制胆汁酸的合成及重吸收, 促进胆汁酸的排泄降低肝内胆胆汁淤积程度起代偿性作用, 改善临床症状, 保护机体免受进一步损伤。但是, 由于梗阻原因并没有解除, 长期的代偿反应加重胆汁淤积, 最终导致失代偿造成肝及其他脏器不可逆的损伤甚至死亡。吴晓平等<sup>[33]</sup>在研究阻塞性胆汁淤积大鼠肝脏CYP7A1与FXRSHP变化时发现, 严重的胆汁淤积导致肝细胞损伤、胆酸分泌减少, FXR及SHP的表达减少, CYP7A1的表达及活性增强。可能说明了失代偿期FXR的表达将会降低, 加重肝及其他脏器的损伤甚至导致死亡。

### 3.2 FXR对肝细胞的作用

3.2.1 FXR保护肝细胞: 在生理状态下, 胆汁酸经胆道流入十二指肠, 促进脂类的消化和吸收。因胆汁酸同时具有亲水性和亲脂性, 在胆道梗阻等病理因素下, 不能正常排入肠道的胆汁酸将在肝内淤积, 甚至返流入血。胆汁酸随血液在心脏、肾脏、皮肤等器官组织淤积时, 具有较强的细胞毒性和溶解细胞的毒性作

### ■创新盘点

本文通过文献综述, 总结出梗阻性黄疸时患者在代偿期及失代偿期FXR的表达情况、临床表现不同。代偿期激活FXR受体, 抑制胆汁酸的合成及重吸收, 促进胆汁酸的排泄降低肝内胆胆汁淤积程度, 临床表现及病理改变较轻; 失代偿期, FXR表达减少, 胆汁酸合成增多、排泄减少加重肝及其他脏器的损伤甚至导致死亡。

## 应用要点

本文综述了FXR在胆汁酸代谢及在梗阻性黄疸中的作用及分子机制。各种因素引起的梗阻性黄疸, FXR的表达将发生相应的改变。因此, 可通过给予FXR的激动剂或抑制剂调节FXR的表达, 干涉或延缓黄疸病情的进展。对临床治疗各种原因引起的梗阻性黄疸的治疗具有一定的指导作用。

用。通过肝内、外胆汁淤积的小鼠模型研究已证明人工合成的FXR激动剂GW4064能激活FXR, 发挥保护肝脏免受胆汁淤积性肝损害的作用。这种依赖FXR的保肝作用机制是通过抑制CYP7A1, 并诱导转运胆汁酸、磷脂进入胆汁的蛋白(Mdr2)表达增加, 从而减少肝细胞内胆汁酸的水平<sup>[34]</sup>。研究<sup>[35]</sup>发现随着FXR的激活, 肝 $\alpha$ A-晶体蛋白的含量也会增加。 $\alpha$ A-晶体蛋白充当分子伴侣防止蛋白质的变性, 保护肝脏免受高水平胆汁酸的毒性反应。另外, 已知活化的FXR能激活孕烷X受体(pregnane X receptor, PXR), PXR活化后能诱导降解胆汁酸的基因表达, 保护肝脏及减轻胆汁淤积引起的毒性反应。研究<sup>[36]</sup>发现FXR、PXR双敲除将明显增强胆汁酸毒性, 对FXR、PXR双敲除的小鼠予以苯巴比妥处理后, 发现血清胆汁酸明显减少, 肝内胆汁酸代谢基因表达增强, 证明了胆汁淤积时激活FXR, 通过抑制CYP7A1, 促进PXR以及 $\alpha$ A-晶体蛋白的表达保护肝细胞。

在胆汁淤积性肝病中发现肝细胞很少发生坏死, 从病理上看绝大多数肝细胞表现为肝细胞体积缩小和嗜酸性变, 说明胆汁淤积性肝病时绝大多数肝细胞都发生凋亡。目前, 利用清除血清来制造HepG2细胞凋亡模型, 使用FXR的激动剂可以明显减轻由清除血清引起的细胞凋亡。通过给FXR基因敲除的小鼠喂高浓度的CDCA, 结果发现肝脏细胞大量凋亡。另外, 有实验报道<sup>[37]</sup>敲除了FXR基因的小鼠有自发的肝肿瘤细胞形成和强烈的肝细胞凋亡, 说明了FXR具有保护细胞抗凋亡的作用。进一步的研究<sup>[38]</sup>表明FXR是通过MAPK途径引起ERK1/2的磷酸化来保护肝细胞免受损伤, FXR激动剂可以加强ERK1/2磷酸化从而抑制细胞的凋亡。

**3.2.2 FXR抑制肝纤维化:** 目前, 已证明FXR与胆汁淤积性肝硬化有关, 肝星状细胞激活促进细胞外基质蛋白的分泌, 最终导致肝纤维化<sup>[39]</sup>。最新研究<sup>[40]</sup>表明在鼠和人类的肝星状细胞中有FXR的表达, FXR的激活可抑制肝星状细胞分泌细胞外基质蛋白防止并溶解肝纤维瘢痕。Fausther等<sup>[41]</sup>对FXR敲除的小鼠和野生小鼠分别予以胆总管结扎, 并分别给予碳酸二月桂酯处理, 发现FXR敲除的小鼠肝硬化程度更重。最近, 实验研究<sup>[42]</sup>证明FXR另一个强效激动剂6-ECDCA能通过激活FXR对抗肝纤维化。

在猪血清诱导小鼠肝纤维化模型中, 给予小鼠6-ECDCA处理12 wk以后肝星状细胞胶原蛋白的表达明显减少, 生长因子及肌动蛋白合成明显增加。在胆管结扎、CCl<sub>4</sub>中毒制造胆汁淤积性肝硬化小鼠模型中, 予以6-ECDCA处理可激活FXR从而诱导SHP表达, 并抑制金属蛋白酶组织抑制剂的表达, 加速胶原蛋白降解, 防止肝纤维化。

**3.2.3 FXR促进肝再生:** 肝脏具有很强的再生能力, 切除肝脏的3/4后仍能再生。实验表明FXR在肝再生过程中起着重要作用。肝部分切除术后的野生小鼠和FXR敲除的小鼠分别予以胆汁酸饮食, 发现前者肝再生速度加快, 而FXR敲除的小鼠肝再生的速度明显降低<sup>[43]</sup>。同样, 也有实验表明给小鼠低剂量的胆汁酸可促进肝再生, 予以胆汁酸结合树脂则阻碍肝再生, 说明肝再生依赖FXR的胆汁酸信号<sup>[44]</sup>。

因此, 可以推断梗阻性黄疸时可能是由于胆汁酸的淤积导致FXR受体的下调, 使肝细胞失去FXR抗凋亡作用以及促进肝细胞再生作用从而加重了肝细胞的凋亡和肝脏纤维化。

**3.3 FXR抑制肠道细菌移位** 梗阻性黄疸时胆汁酸不能排入肠腔中断了肠肝循环, 促进肠道细菌增殖、移位, 口服胆汁酸后肠道细菌减少<sup>[45]</sup>。Inagaki等<sup>[46]</sup>以CYP27基因敲除的小鼠为实验对象, 发现胆汁酸的合成减少, FXR的表达减少, 肠道内细菌增殖活跃, 肠黏膜损伤。给CYP27基因敲除但FXR基因未敲除的小鼠予以GW4064可抑制肠道细菌的增殖移位, 减轻肠道黏膜损伤。认为肠内FXR在抑制肠道细菌生长、保护肠道免受细菌损伤起着重要作用。肠内FXR能够激活多种靶基因的表达, 如血管生长因子、一氧化氮合酶、肿瘤坏死因子、白介素等, 均能抑制细菌生长<sup>[43]</sup>。另外, 在梗阻性黄疸中肝枯否细胞的吞噬能力下降和肠壁通透性增强都促使炎症细胞侵入破坏肠黏膜屏障<sup>[47]</sup>。氧化剂和抗氧化剂失衡导致肠黏膜绒毛水肿和坏死破坏了肠黏膜屏障<sup>[48]</sup>, 造成肠道细菌的移位和大量内毒素入血引起脓毒症。最近有研究表明, 使用FXR激动剂GW4064能抑制胆管结扎小鼠肠道细菌过度生长以及肠道上皮水肿和肠上皮绒毛中性粒细胞浸润, 保护肠黏膜的完整性<sup>[49]</sup>。此外, 有文献报道<sup>[50]</sup>梗阻性黄疸手术治疗的两种方法-胆汁外引流和胆汁内引流, 认为胆汁内引流能增加肠FXR的表

达, 抑制肠道细菌的繁殖, 维持肠黏膜的完整性, 减少肠源性感染和内毒素血症的发生(相对胆汁外引流).

#### 4 FXR激动剂治疗梗阻性黄疸

随着研究的深入, FXR在梗阻性黄疸中的作用逐渐被人们所认识和重视. 目前, 临床上已批准熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗胆汁性肝硬化. UDCA刺激BSEP、Mdr3、MRP4的表达, 但对CYP7A1并不起作用. 体外研究<sup>[30]</sup>表明, UDCA激活PXR, 对FXR没有作用. 在胆管结扎的梗阻性黄疸小鼠模型, 予以FXR的强力激动剂GW4064能促进BSEP、SHP的表达, 抑制NTCP、CYP7A1的表达, 使胆汁淤积标志物如碱性磷酸酶、胆红素水平明显降低<sup>[34]</sup>. 最近, 黄伟炜等<sup>[51]</sup>通过实验证明CDCA能明显减轻胆道梗阻后大鼠的肝脏损伤. 尽管实验研究多次证明了FXR激动剂对梗阻性黄疸能发挥治疗作用, 但应用于临床仍有待于进一步的研究证实.

#### 5 结论

FXR在梗阻性黄疸中通过反馈调节胆汁酸代谢保护肝细胞及抑制肠道细菌增殖、移位等发挥重要作用. 在梗阻性黄疸初期, 肝细胞FXR表达上调, 抑制胆汁酸的合成及摄取并同时增强肝细胞抗凋亡的能力, 此时患者的临床表现较轻. 当梗阻病因长期存在导致机体失代偿时FXR的表达则下降, 肝细胞凋亡增加并发生纤维化, 肠道细菌增殖、移位, 导致内毒素血症, 病情持续加重. 在以上病理过程中, 研究和开发针对FXR及其靶基因的特异性药物, 有希望为治疗或缓解梗阻性黄疸病情提供新的方法和途径.

#### 6 参考文献

- 1 Krawczyk M, Grünhage F, Langhirt M, Bohle RM, Lammert F. Prolonged cholestasis triggered by hepatitis A virus infection and variants of the hepatocanalicular phospholipid and bile salt transporters. *Ann Hepatol* 2012; 11: 710-714 [PMID: 22947535]
- 2 Ali AH, Carey EJ, Lindor KD. Recent advances in the development of farnesoid X receptor agonists. *Ann Transl Med* 2015; 3: 5 [PMID: 25705637 DOI: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.12.06]
- 3 Chiang JY. Bile acid regulation of gene expression: roles of nuclear hormone receptors. *Endocr Rev* 2002; 23: 443-463 [PMID: 12202460 DOI: 10.1210/er.2000-0035]
- 4 Seol W, Choi HS, Moore DD. Isolation of proteins that interact specifically with the retinoid X

receptor: two novel orphan receptors. *Mol Endocrinol* 1995; 9: 72-85 [PMID: 7760852 DOI: 10.1210/mend.9.1.7760852]

- 5 Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol Rev* 2009; 89: 147-191 [PMID: 19126757 DOI: 10.1152/physrev.00010.2008]
- 6 Forman BM, Goode E, Chen J, Oro AE, Bradley DJ, Perlmann T, Noonan DJ, Burka LT, McMorris T, Lamph WW, Evans RM, Weinberger C. Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites. *Cell* 1995; 81: 687-693 [PMID: 7774010 DOI: 10.1016/0092-8674(95)90530-8]
- 7 Zhang Y, Kast-Woelbern HR, Edwards PA. Natural structural variants of the nuclear receptor farnesoid X receptor affect transcriptional activation. *J Biol Chem* 2003; 278: 104-110 [PMID: 12393883 DOI: 10.1074/jbc.M209505200]
- 8 Makishima M, Okamoto AY, Repa JJ, Tu H, Learned RM, Luk A, Hull MV, Lustig KD, Mangelsdorf DJ, Shan B. Identification of a nuclear receptor for bile acids. *Science* 1999; 284: 1362-1365 [PMID: 10334992 DOI: 10.1126/science.284.5418.1362]
- 9 Lew JL, Zhao A, Yu J, Huang L, De Pedro N, Peláez F, Wright SD, Cui J. The farnesoid X receptor controls gene expression in a ligand- and promoter-selective fashion. *J Biol Chem* 2004; 279: 8856-8861 [PMID: 14684751 DOI: 10.1007/1-4020-2913-6\_8]
- 10 Lee FY, Lee H, Hubbert ML, Edwards PA, Zhang Y. FXR, a multipurpose nuclear receptor. *Trends Biochem Sci* 2006; 31: 572-580 [PMID: 16908160 DOI: 10.1016/j.tibs.2006.08.002]
- 11 Shen H, Zhang Y, Ding H, Wang X, Chen L, Jiang H, Shen X. Farnesoid X receptor induces GLUT4 expression through FXR response element in the GLUT4 promoter. *Cell Physiol Biochem* 2008; 22: 1-14 [PMID: 18769028 DOI: 10.1159/000149779]
- 12 Yu J, Lo JL, Huang L, Zhao A, Metzger E, Adams A, Meinke PT, Wright SD, Cui J. Lithocholic acid decreases expression of bile salt export pump through farnesoid X receptor antagonist activity. *J Biol Chem* 2002; 277: 31441-31447 [PMID: 12052824 DOI: 10.1074/jbc.M200474200]
- 13 Hoeke MO, Heegsma J, Hoekstra M, Moshage H, Faber KN. Human FXR regulates SHP expression through direct binding to an LRH-1 binding site, independent of an IR-1 and LRH-1. *PLoS One* 2014; 9: e88011 [PMID: 24498423 DOI: 10.1371/journal.pone.0088011]
- 14 Jonker JW, Liddle C, Downes M. FXR and PXR: potential therapeutic targets in cholestasis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2012; 130: 147-158 [PMID: 21801835 DOI: 10.1016/j.jsbmb.2011.06.012]
- 15 Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez FJ. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell* 2000; 102: 731-744 [PMID: 11030617 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)00062-3]
- 16 Chiang JY, Kimmel R, Weinberger C, Stroup D. Farnesoid X receptor responds to bile acids and represses cholesterol 7alpha-hydroxylase gene (CYP7A1) transcription. *J Biol Chem* 2000; 275: 10918-10924 [PMID: 10753890 DOI: 10.1074/

#### 同行评价

文章介绍了FXR在梗阻性黄疸中通过反馈调节胆汁酸代谢保护肝细胞及抑制肠道细菌增殖、移位等的重要作用及FXR激动剂在临床的应用, 有近期文献的研究进展, 有较重要的临床意义.



- jbc.275.15.10918]
- 17 De Fabiani E, Mitro N, Anzulovich AC, Pinelli A, Galli G, Crestani M. The negative effects of bile acids and tumor necrosis factor- $\alpha$  on the transcription of cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase gene (CYP7A1) converge to hepatic nuclear factor-4: a novel mechanism of feedback regulation of bile acid synthesis mediated by nuclear receptors. *J Biol Chem* 2001; 276: 30708-30716 [PMID: 11402042 DOI: 10.1074/jbc.M103270200]
- 18 Kerr TA, Saeki S, Schneider M, Schaefer K, Berdy S, Redder T, Shan B, Russell DW, Schwarz M. Loss of nuclear receptor SHP impairs but does not eliminate negative feedback regulation of bile acid synthesis. *Dev Cell* 2002; 2: 713-720 [PMID: 12062084 DOI: 10.1016/s1534-5807(02)00154-5]
- 19 Boulias K, Katrakili N, Bamberg K, Underhill P, Greenfield A, Talianidis I. Regulation of hepatic metabolic pathways by the orphan nuclear receptor SHP. *EMBO J* 2005; 24: 2624-2633 [PMID: 15973435 DOI: 10.1038/sj.emboj.7600728]
- 20 Inagaki T, Choi M, Moschetta A, Peng L, Cummins CL, McDonald JG, Luo G, Jones SA, Goodwin B, Richardson JA, Gerard RD, Repa JJ, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA. Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. *Cell Metab* 2005; 2: 217-225 [PMID: 16213224 DOI: 10.1016/j.cmet.2005.09.001]
- 21 Holt JA, Luo G, Billin AN, Bisi J, McNeill YY, Kozarsky KF, Donahee M, Wang DY, Mansfield TA, Kliewer SA, Goodwin B, Jones SA. Definition of a novel growth factor-dependent signal cascade for the suppression of bile acid biosynthesis. *Genes Dev* 2003; 17: 1581-1591 [PMID: 12815072 DOI: 10.1101/gad.1083503]
- 22 Miao J, Xiao Z, Kanamaluru D, Min G, Yau PM, Veenstra TD, Ellis E, Strom S, Suino-Powell K, Xu HE, Kemper JK. Bile acid signaling pathways increase stability of Small Heterodimer Partner (SHP) by inhibiting ubiquitin-proteasomal degradation. *Genes Dev* 2009; 23: 986-996 [PMID: 19390091 DOI: 10.1101/gad.1773909]
- 23 Garzel B, Yang H, Zhang L, Huang SM, Polli JE, Wang H. The role of bile salt export pump gene repression in drug-induced cholestatic liver toxicity. *Drug Metab Dispos* 2014; 42: 318-322 [PMID: 24335466 DOI: 10.1124/dmd.113.054189]
- 24 Ananthanarayanan M, Balasubramanian N, Makishima M, Mangelsdorf DJ, Suchy FJ. Human bile salt export pump promoter is transactivated by the farnesoid X receptor/bile acid receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 28857-28865 [PMID: 11387316 DOI: 10.1074/jbc.M011610200]
- 25 Matsubara T, Li F, Gonzalez FJ. FXR signaling in the enterohepatic system. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 368: 17-29 [PMID: 22609541 DOI: 10.1016/j.mce.2012.05.004]
- 26 Sinha J, Chen F, Miloh T, Burns RC, Yu Z, Shneider BL. beta-Klotho and FGF-15/19 inhibit the apical sodium-dependent bile acid transporter in enterocytes and cholangiocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G996-G1003 [PMID: 18772362 DOI: 10.1152/ajpgi.90343.2008]
- 27 Boyer JL, Trauner M, Mennone A, Soroka CJ, Cai SY, Moustafa T, Zollner G, Lee JY, Ballatori N. Upregulation of a basolateral FXR-dependent bile acid efflux transporter OSTalpha-OSTbeta in cholestasis in humans and rodents. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G1124-G1130 [PMID: 16423920 DOI: 10.1152/ajpgi.00539.2005]
- 28 Fiorucci S, Distrutti E, Ricci P, Giuliano V, Donini A, Baldelli F. Targeting FXR in cholestasis: hype or hope. *Expert Opin Ther Targets* 2014; 18: 1449-1459 [PMID: 25200104 DOI: 10.1517/14728222.2014.956087]
- 29 Alvelius G, Hjalmarson O, Griffiths WJ, Björkhem I, Sjövall J. Identification of unusual 7-oxygenated bile acid sulfates in a patient with Niemann-Pick disease, type C. *J Lipid Res* 2001; 42: 1571-1577 [PMID: 11590212]
- 30 Denson LA, Sturm E, Echevarria W, Zimmerman TL, Makishima M, Mangelsdorf DJ, Karpen SJ. The orphan nuclear receptor, shp, mediates bile acid-induced inhibition of the rat bile acid transporter, ntcp. *Gastroenterology* 2001; 121: 140-147 [PMID: 11438503 DOI: 10.1053/gast.2001.25503]
- 31 Maeda T, Miyata M, Yotsumoto T, Kobayashi D, Nozawa T, Toyama K, Gonzalez FJ, Yamazoe Y, Tamai I. Regulation of drug transporters by the farnesoid X receptor in mice. *Mol Pharm* 2004; 1: 281-289 [PMID: 15981587 DOI: 10.1021/mp0499656]
- 32 Eloranta JJ, Jung D, Kullak-Ublick GA. The human Na<sup>+</sup>-taurocholate cotransporting polypeptide gene is activated by glucocorticoid receptor and peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ , and suppressed by bile acids via a small heterodimer partner-dependent mechanism. *Mol Endocrinol* 2006; 20: 65-79 [PMID: 16123152 DOI: 10.1210/me.2005-0159]
- 33 吴晓平, 柴进, 陈文生. 阻塞性胆汁淤积大鼠肝脏胆固醇7 $\alpha$ -羟化酶和核受体FXR、SHP表达变化. 第二军医大学学报 2009; 12: 1398-1401
- 34 Liu Y, Binz J, Numerick MJ, Dennis S, Luo G, Desai B, MacKenzie KI, Mansfield TA, Kliewer SA, Goodwin B, Jones SA. Hepatoprotection by the farnesoid X receptor agonist GW4064 in rat models of intra- and extrahepatic cholestasis. *J Clin Invest* 2003; 112: 1678-1687 [PMID: 14623915 DOI: 10.1172/JCI200318945]
- 35 Lee FY, Kast-Woelbern HR, Chang J, Luo G, Jones SA, Fishbein MC, Edwards PA. Alpha-crystallin is a target gene of the farnesoid X-activated receptor in human livers. *J Biol Chem* 2005; 280: 31792-31800 [PMID: 16012168 DOI: 10.1074/jbc.M503182200]
- 36 Guo GL, Lambert G, Negishi M, Ward JM, Brewer HB, Kliewer SA, Gonzalez FJ, Sinal CJ. Complementary roles of farnesoid X receptor, pregnane X receptor, and constitutive androstane receptor in protection against bile acid toxicity. *J Biol Chem* 2003; 278: 45062-45071 [PMID: 12923173 DOI: 10.1074/jbc.M307145200]
- 37 Yang F, Huang X, Yi T, Yen Y, Moore DD, Huang W. Spontaneous development of liver tumors in the absence of the bile acid receptor farnesoid X receptor. *Cancer Res* 2007; 67: 863-867 [PMID: 17283114 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1078]
- 38 Wang YD, Yang F, Chen WD, Huang X, Lai L, Forman BM, Huang W. Farnesoid X receptor protects liver cells from apoptosis induced by serum deprivation in vitro and fasting in vivo. *Mol Endocrinol* 2008; 22: 1622-1632 [PMID: 18436567]

- DOI: 10.1210/me.2007-0527]
- 39 Schuppan D, Popov Y. Hepatic fibrosis: from bench to bedside. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17 Suppl 3: S300-S305 [PMID: 12472954 DOI: 10.1046/j.1440-1746.17.s3.18.X]
  - 40 Chen WD, Wang YD, Zhang L, Shiah S, Wang M, Yang F, Yu D, Forman BM, Huang W. Farnesoid X receptor alleviates age-related proliferation defects in regenerating mouse livers by activating forkhead box m1b transcription. *Hepatology* 2010; 51: 953-962 [PMID: 19998409 DOI: 10.1002/hep.23390]
  - 41 Fausther M, Dranoff JA. New insights on the pathogenesis of biliary cirrhosis provided by studies in FXR knockout mice. *J Hepatol* 2011; 55: 939-940 [PMID: 21672564 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.04.013]
  - 42 Fiorucci S, Antonelli E, Rizzo G, Renga B, Mencarelli A, Riccardi L, Orlandi S, Pellicciari R, Morelli A. The nuclear receptor SHP mediates inhibition of hepatic stellate cells by FXR and protects against liver fibrosis. *Gastroenterology* 2004; 127: 1497-1512 [PMID: 15521018 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.08.001]
  - 43 Huang W, Ma K, Zhang J, Qatanani M, Cuvillier J, Liu J, Dong B, Huang X, Moore DD. Nuclear receptor-dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration. *Science* 2006; 312: 233-236 [PMID: 16614213 DOI: 10.1126/science.1121435]
  - 44 Chen WD, Wang YD, Meng Z, Zhang L, Huang W. Nuclear bile acid receptor FXR in the hepatic regeneration. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 888-892 [PMID: 21167938 DOI: 10.1016/j.bbdis.2010.12.006]
  - 45 Lorenzo-Zúñiga V, Bartolí R, Planas R, Hofmann AF, Viñado B, Hagey LR, Hernández JM, Mañé J, Alvarez MA, Ausina V, Gassull MA. Oral bile acids reduce bacterial overgrowth, bacterial translocation, and endotoxemia in cirrhotic rats. *Hepatology* 2003; 37: 551-557 [PMID: 12601352 DOI: 10.1053/jhep.2003.50116]
  - 46 Inagaki T, Moschetta A, Lee YK, Peng L, Zhao G, Downes M, Yu RT, Shelton JM, Richardson JA, Repa JJ, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA. Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 3920-3925 [PMID: 16473946 DOI: 10.1073/pnas.0509592103]
  - 47 Mankertz J, Tavalali S, Schmitz H, Mankertz A, Riecken EO, Fromm M, Schulzke JD. Expression from the human occludin promoter is affected by tumor necrosis factor alpha and interferon gamma. *J Cell Sci* 2000; 113 (Pt 11): 2085-2090 [PMID: 10806119]
  - 48 Assimakopoulos SF, Scopa CD, Charonis A, Spiliopoulou I, Georgiou C, Nikolopoulou V, Vagianos CE. Experimental obstructive jaundice disrupts intestinal mucosal barrier by altering occludin expression: beneficial effect of bombesin and neurotensin. *J Am Coll Surg* 2004; 198: 748-757 [PMID: 15110809 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2003.12.017]
  - 49 D'Aldebert E, Biyeyeme Bi Mve MJ, Mergey M, Wendum D, Firrincieli D, Coilly A, Fouassier L, Corpechot C, Poupon R, Housset C, Chignard N. Bile salts control the antimicrobial peptide cathelicidin through nuclear receptors in the human biliary epithelium. *Gastroenterology* 2009; 136: 1435-1443 [PMID: 19245866 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.040]
  - 50 Wu L, Li W, Wang Z, Yuan Z, Hyder Q. Bile acid-induced expression of farnesoid X receptor as the basis for superiority of internal biliary drainage in experimental biliary obstruction. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 496-503 [PMID: 23410061 DOI: 10.3109/00365521.2013.763173]
  - 51 黄伟炜, 郑进方, 宫晓光, 王保春, 伍海鹰, 刘宁. 阻塞性黄疸大鼠肝脏中法尼酯衍生物X受体的表达及CDCA对其影响. *海南医学* 2012; 22: 1003-6350

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

