doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.23.002

黄芪甲苷 IV 调节 MRP3 的表达及功能研究 *

米琼宇 吉金子 邰 婷 谷彤彤 周 缓

（南京医科大学附属南京医院（南京市第一医院）中心实验室 江苏 南京 210000）

摘要 目的：研究黄芪甲苷 IV（AS-IV）对人肝癌细胞 HepG2 中多药耐药相关蛋白 -3（MRP3）的调节作用，为 AS-IV 可能引发的药物相互作用阐明机制。**方法：**培养 HepG2 细胞，用不同浓度 AS-IV 进行干预，Western blotting 方法检测细胞中 MRP3 的蛋白水平，流式细胞术检测胞内 5- 羧基荧光素（5-CF）的荧光强度，反映 MRP 的功能；给予 MRP3 siRNA 干扰，观察 AS-IV 诱导的 MRP3 蛋白表达是否增加其外排转运功能；提取胞核、总蛋白，检测胞核核因子 E2 相关因子 2（Nrf2）、总 Nrf2 蛋白水平；给予 Nrf2 siRNA 干扰，观察 AS-IV 诱导的 MRP3 蛋白表达是否依赖于 Nrf2。**结果：**200 μmol/L AS-IV 作用 48 h 后，细胞 MRP3 的蛋白水平显著增加（$P<0.05$），胞内 5-CF 的平均荧光强度（MFI）明显低于对照组（$P<0.05$），与单独给予 AS-IV 组相比，给予 MRP3 siRNA 干扰显著增加了胞内 5-CF 的 MFI（$P<0.05$）。AS-IV 增加了胞核内 Nrf2 的蛋白水平（$P<0.01$），亦增加了总 Nrf2 的蛋白表达（$P<0.01$）。给予 Nrf2 siRNA 干扰后，AS-IV 诱导上调的 MRP3 被显著抑制（$P<0.05$）。**结论：**AS-IV 可通过上调 MRP3 的蛋白表达，增加其外排转运功能，Nrf2 的激活在 AS-IV 诱导 MRP3 蛋白表达中起着重要的作用。本研究提示，AS-IV 与 MRP3 底物合用时，可能会产生药物 - 药物相互作用。

关键词：黄芪甲苷 IV；多药耐药相关蛋白 -3；核因子 E2 相关因子 2；药物 - 药物相互作用

中图分类号：R-33；R285；R965 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273（2019）23-4407-04

The Molecular Mechanism Underlying the Induction of MRP3 Expression and Function by Astragaloside IV*

MI Qiong-yu, JI Jin-zi, TAI Ting, GU Tong-tong, ZHOU Huan

(Department of Central laboratory, Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the regulation of astragaloside IV (AS-IV) on multidrug resistance associated protein 3 (MRP3) in HepG2 cells. Results would provide information for AS-IV-induced drug-drug interactions (DDIs) during clinical application. **Methods:** Cultured HepG2 cells were administered with AS-IV at different concentrations. Protein levels of MRP3 were determined by Western blotting. Mean fluorescence intensity (MFI) of 5-carboxyfluorescein (5-CF) was measured by flow cytometry to determine MRP function. MRP3 siRNA knock-down was used to determine whether the MRP3 protein induced by AS-IV possessed an enhanced efflux transport. Nuclear and total protein were extracted, and both nuclear and total nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) were determined by Western blotting. Nrf2 siRNA knock-down was used to determine whether the induction of MRP3 protein by AS-IV was Nrf2 dependent. **Results:** 48 h treatment of AS-IV at the dose of 200 μmol/L caused a significant increase in MRP3 protein levels($P<0.05$). The MFI value of 5-CF retained in cells treated with AS-IV was lower than that in vehicle-treated cells($P<0.05$). Pretreatment with MRP3 siRNA led to an increased MFI, when compared with AS-IV alone ($P<0.05$). Furthermore, AS-IV remarkably increased both nuclear ($P<0.01$) and total Nrf2 ($P<0.01$) protein levels in cells. AS-IV-induced increase in MRP3 protein expression was attenuated by pretreatment with Nrf2 siRNA($P<0.05$). **Conclusions:** AS-IV induces MRP3 protein expression and enhances MRP3 efflux pumping activity. Activation of Nrf2 plays an important role in induction of MRP3 protein levels by AS-IV. These results suggested that potentially DDIs likely occurred when AS-IV was used concomitantly with other drugs that are substrates of MRP3.

Key words: Astragaloside IV; MRP3; Nrf2; Drug-drug interactions

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R285; R965 Document code: A

Article ID: 1673-6273（2019）23-4407-04

前言

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 Astragalus membranaceus (Fisch.) Bunge. var. mongholicus (Bunge.) Hsiao 或膜荚黄芪 A. membranaceus (Fisch.) Bunge 的干燥根，临床上常联合其他药物来治疗慢性疾病、增强机体免疫力等 [1,2]。黄芪甲苷 IV（Astragaloside IV, AS-IV）为黄芪皂苷类单体成分，是黄芪的主要活性成分之一。多药耐药相关蛋白 -3（Multidrug resistance as-

* 基金项目：国家自然科学基金青年科学项目（81503144）；南京市医学科技发展资金项目（QRX17069）

作者简介：米琼宇（1981-），女，博士，助理研究员，主要研究方向：药理学，电话：025-52887003，15366136119，E-mail: damiok2013@163.com

（收稿日期：2019-06-21 接受日期：2019-07-17）

sociated protein, MRP3)是 ABCC3 基因表达的产物,主要表达在肝细胞的基底膜侧,作为主要的具有外排功能的药物转运蛋白,可将细胞内的药物转运至细胞膜外,在药物吸收、分布及转运中发挥作用[3-5]。研究报道,AS-IV 可诱导 MRP3 的蛋白表达[1],但对其外排功能的影响及其诱导 MRP3 的机制尚不明确。已知胞浆的核因子 E2 相关因子 2(Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)表达增加和激活能够显著诱导 MRP3 的表达[6,7],且 AS-IV 能够增加 HepG2 细胞 Nrf2 的表达 [8],但 Nrf2 在 AS-IV 上调 MRP3 表达中的作用,尚不清楚。因此,本研究拟探索 AS-IV 对 MRP3 的功能影响及其上调 MRP3 的具体机制,为 AS-IV 潜在的药物 - 药物相互作用(Drug-drug interactions, DDIs)提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌细胞 HepG2 购于广州赛库生物技术公司;DMEM 及胎牛血清购自美国 Hyclone 公司;AS-IV、5- 二乙酸羧基荧光素(5-CFDA)、吲哚美辛、二甲基亚砜(DMSO)购于美国 Sigma-Aldrich 公司;胞浆、胞核提取试剂盒购自美国 Invent 公司;胰酶 -EDTA、BCA 蛋白定量试剂盒和 ECL 发光液购自中国凯基公司;Lipofectamine 3000 购自美国 Invitrogen 公司;人 MRP3 siRNA、Nrf2 siRNA 和 control siRNA 购自美国 Santa Cruz 公司;anti-MRP3、anti-Nrf2 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;anti-GAPDH 抗体购自美国 Proteintech 公司;anti-Histone H3 抗体购自美国 Bioworld 公司;羊抗兔二抗购自美国 Jackson Immuno Research 公司;羊抗鼠二抗购自中国 Biosharp 公司;流式细胞仪(BD canton II)购自美国 BD 公司、化学发光成像系统(Las4000 mini)购自美国 GE 公司、多功能酶标仪(Infinite 200 Pro)购自瑞士 Tecan 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HepG2 细胞培养于含 10 %胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养基(含 1 % PS)中,置于 37 ℃ 5 % CO_2 培养箱中常规培养,当 HepG2 生长融合成单层时,0.25 %胰酶(含 0.02 % EDTA)消化传代。

1.2.2 试验分组 细胞接种于 6 孔板,培养基中生长大于 60 %融合状态后,加入不同浓度 AS-IV(50、100、200 μmol/L)或 0.1 % DMSO 溶剂对照培养 48 h,研究不同浓度 AS-IV 对 MRP3 蛋白、胞核 Nrf2、总 Nrf2 蛋白的影响;给予 MRP3 siRNA 干扰,再给予 AS-IV 200 μmol/L 孵育 48 h,观察 AS-IV 对MRP3 功能的影响;给予 Nrf2 siRNA 干扰,再给予 AS-IV 200 μmol/L 孵育 48 h,检测 AS-IV 对 MRP3 蛋白的影响。

1.2.3 细胞转染 1× 10^6 个 /mL HepG2 细胞种于 6 孔板,培养至大于 60 %融合状态时,按说明书要求采用 Lipo 3000 转染试剂分别转染 control-siRNA、siRNA MRP3 或 siRNA Nrf2 各 1 μg 入细胞,后给予 200 μmol/L AS-IV 或 0.1 % DMSO 溶剂对照,培养 48 h。

1.2.4 细胞蛋白的提取 ① 全蛋白的提取:弃去培养基,各组细胞经预冷的 PBS 洗涤后,加入 60 μL 裂解液(含蛋白酶抑制剂),将细胞收集至管中,冰上静置 30 min,12000× g 离心 15 min,取上清,检测 MRP3、Nrf2 的蛋白表达;② 胞核蛋白的提取:按试剂盒说明书操作步骤提取胞核蛋白,检测胞核中 Nrf2 的表达。

1.2.5 Western blotting 法检测蛋白水平 配制 8% SDS-PAGE 胶,上样蛋白 50 μg,电泳分离后半干转印至 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶封闭,分别与一抗(anti-MRP3 抗体 1:100 稀释,anti-Nrf2 抗体 1:500 稀释,anti-GAPDH 抗体 1:5000 稀释、anti-Histone H3 抗体 1:500 稀释)4 ℃孵育过夜,辣根过氧化物酶结合的二抗(鼠二抗 1:80000 稀释、兔二抗 1:100000 稀释)室温孵育 1 h。ECL 化学发光法检测,在化学发光成像系统中显像、摄片、保存记录。用图象处理软件 Image J 分析目标带分子量和光密度值。

1.2.6 流式细胞仪测定 MRP3 功能 5- 二乙酸羧基荧光素(5-CFDA)是一种非荧光探针,可被细胞内酯酶水解,释放荧光 5- 羧基荧光素(5-CF),MRP 可将 5-CF 泵出细胞外,用流式法检测细胞内的 5-CF 荧光强度,可间接反映 MRP 的功能,我们采取 MRP3 siRNA 干扰或给予吲哚美辛(MRP 特异性抑制剂),观察 AS-IV 对 MRP3 转运功能的影响。HepG2 细胞接种于 6 孔板,处理后取各组细胞,PBS 洗 2 遍,加入 5-CFDA 5 μmol/L,37 ℃孵育 30 min,PBS 洗 3 遍,加入吲哚美辛 200 μmol/L,37 ℃孵育 30 min,PBS 洗 2 遍,0.25 %胰酶(含 0.02 % EDTA)消化后收集细胞,PBS 洗 3 遍后,制备成单细胞悬液,计数每组细胞数为 5× 10^6/mL,取 250 μL 细胞悬液上机检测。

1.3 统计学分析

各组数据均来自 3~4 例不同的测定结果,数值以平均值 ± 标准差(SD)表示,数据分析用 GraphPad Prism version 6 软件进行处理,多组间比较采用 one-way ANOVA 方法分析,两样本之间比较用 t 检验,以 $P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 AS-IV 对 MRP3 蛋白水平的影响

Western blotting 检测结果表明,给予 HepG2 细胞 200 μmol/L AS-IV 作用 48 h,可显著增加细胞内 MRP3 的蛋白水平($P<0.05$)(图 1),而其他浓度的 AS-IV 对 MRP3 的表达没有影响,后续我们将用 200 μmol/L 作为试验浓度。

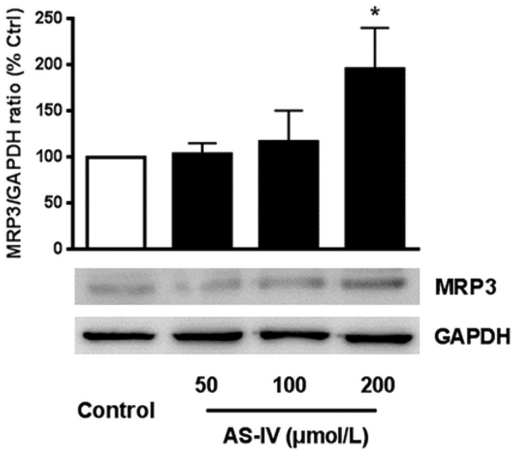

图 1 AS-IV 增加 MRP3 的蛋白水平

Fig.1 AS-IV causes induction of MRP3 protein expression

Note: Data are expressed as $\bar{x}$± SD, n=3. *$P<0.05$, compared with control group.

2.2 AS-IV 对 MRP3 转运功能的影响

研究表明,高表达的 MRP 可将具有荧光的 5-CF 转运至细胞外,因此,检测胞内 5-CF 的荧光强度,可反映 MRP 的转运功能[9]。流式细胞仪检测结果显示,AS-IV 可显著降低细胞内 5-CF 的荧光强度(P<0.05)(见图 2),提示 AS-IV 增加了 MRP 的转运功能。给予 MRP3 siRNA 干扰后再加入 AS-IV,可显著增加细胞内降低的 5-CF 的水平(P<0.05),提示 MRP3 的敲降引起了 5-CF 在胞内的潴留,AS-IV 可增加 MRP3 的转运功能。与 MRP3 siRNA 组相比,给予吲哚美辛进一步增加了 5-CF 的荧光强度(P<0.01),提示 AS-IV 亦可增加其他 MRP 的功能。

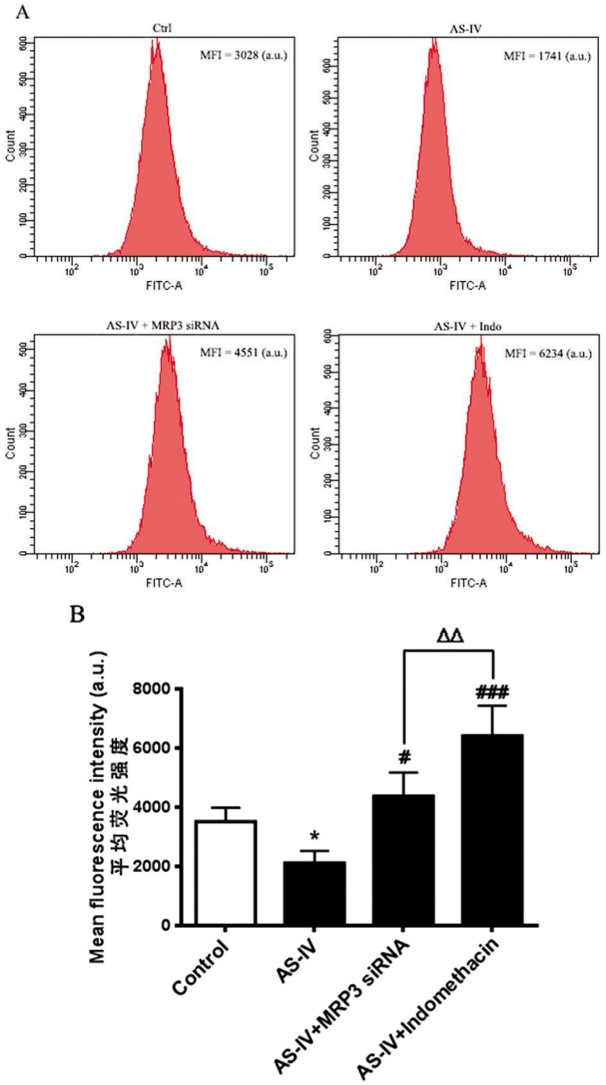

图 2 AS-IV 提高 MRP3 的转运功能

Fig.2 AS-IV induces MRP3 efflux activity

Note: (A) The results are presented as arbitrary units (a.u.) of the mean fluorescence intensity (MFI). (B) Data are expressed as ± SD, n=3. *P<0.05, compared with control group; #P<0.05, ###P<0.001, compared with AS-IV group; ΔΔ P<0.01, compared with AS-IV+MRP3 siRNA group.

2.3 AS-IV 对胞核和总 Nrf2 蛋白表达的影响

给予 HepG2 细胞 200 μmol/L AS-IV 作用 48 h,可显著增加细胞核内 Nrf2 的蛋白水平(P<0.01),总 Nrf2 蛋白表达亦明显增加(P<0.01)(图 3)。

2.4 Nrf2 siRNA 干扰对 AS-IV 诱导的 MRP3 表达上调的影响

为了观察 Nrf2 在 AS-IV 对 MRP3 调节中的作用,我们给予 HepG2 细胞 Nrf2 siRNA 干扰后,加入 200 μmol/L AS-IV 作用 48 h,结果显示,AS-IVB 上调的 MRP3 蛋白水平被明显抑制(P<0.05)(图 4),提示 AS-IV 可能通过增加胞核内 Nrf2 的水平,诱导 MRP3 的蛋白表达。

3 讨论

AS-IV 与其他中药或西药在临床上常联合使用达到治疗目的,药物之间容易发生相互作用,影响疗效。MRP3 作为一种具有外排功能的转运体,受外源性物质的影响,易发生表达或活性改变,进而引起药物的药代动力学变化,在 DDIs 中起重要作用[10]。本研究探索了 AS-IV 对 MRP3 功能的影响,及 Nrf2 在 AS-IV 上调 MRP3 表达中的作用,结果揭示了 AS-IV 对 MRP3 作用的机制,有助于预测 AS-IV 用于临床治疗时因 DDIs 带来的潜在风险。

人肝癌细胞系 HepG2 保留了肝细胞特性,已被证实可作为研究药物影响外排转运体表达和功能的体外模型[11,12]。Zhang 等研究显示,给予 HepG2 细胞 AS-IV(25-100 μmol/L)作用 96 h 可显著增加 MRP3 的蛋白表达[1]。本研究发现,给予 AS-IV 200 μmol/L 作用 48 h 可诱导 MRP3 的表达,而 50、100 μmol/L 无影响,提示中、低浓度 AS-IV 需长时间作用才能对 MRP3 蛋白产生诱导。在以后的研究中可使用不同浓度 AS-IV 作用不同时间,观察 AS-IV 对 MRP3 作用的浓度时间效应。我们进一步研究发现,AS-IV 增加了 MRP3 的外排转运功能。由于缺乏专门针对某一个 MRP 的底物或抑制剂[13],我们无法区分 MRP3 和其他 MRP 的功能。因此本研究中,采用 MRP 的底物 5-CF(由 5-CFDA 水解产生),并给予细胞 MRP3 siRNA 干扰,通过检测 5-CF 的荧光强度,测定 MRP3 的外排转运功能。结果显示,AS-IV 降低了胞内 5-CF 的荧光强度,说明 AS-IV 诱导 MRP 的外排功能,但对 MRP3 的影响尚不明确。进一步给予 MRP3 siRNA 干扰,降低的 5-CF 荧光强度显著增强,提示 AS-IV 可增加 MRP3 的外排功能。此外,与 MRP3 siRNA 相比,给予 MRP 抑制剂吲哚美辛显著增加了潴留在细胞内的 5-CF,提示 AS-IV 除了 MRP3 还可诱导其他 MRP 的转运功能。

Nrf2 是调节众多细胞保护基因表达的关键转录因子,在一些刺激下可以从 Nrf2/ Keap1 二聚体中解离,进入细胞核后激活抗氧化反应元件[14]。研究证实,Nrf2 能够与 MRP3 启动子区域的抗氧化反应元件相互结合[15];研究表明,在小鼠原代肝细胞和野生型小鼠中,Nrf2 的表达增加和激活能够显著诱导 MRP3 的表达[16],但将 Nrf2 基因沉默后,MRP3 表达明显降低[17],且在 Nrf2 基因敲除的小鼠中,MRP3 的 mRNA 水平也显著下降[15,18],表明 Nrf2 的表达和激活在 MRP3 的调控中起到了重要作用。已有研究证实,AS-IV 可增加小鼠肝脏 Nrf2 的蛋白水平[8],并通过激活 Nrf2 发挥肝、肾保护作用[19,20]。本研究亦发现,给予 HepG2 细胞 200 μmol/L 孵育 48 h,可显著增加胞核、总 Nrf2 蛋白表达,且给予 Nrf2 siRNA 干扰后再给予 AS-IV,AS-IV 诱导的 MRP3 蛋白表达被显著抑制,我们推测,AS-IV 可通过促进胞浆中的 Nrf2 进入细胞核,与 MRP3 启动子区域的抗氧化反应元件结合,促进 MRP3 蛋白的表达,从而增强

MRP3 的外排转运功能。研究显示,外源性药物诱导的外排转运体增加在 DDIs 中起着关键作用。由此可见,AS-IV 对 MRP3 蛋白水平和功能的影响可能在联合给药中改变 MRP3 底物药的毒性和疗效,从而引起 DDIs。

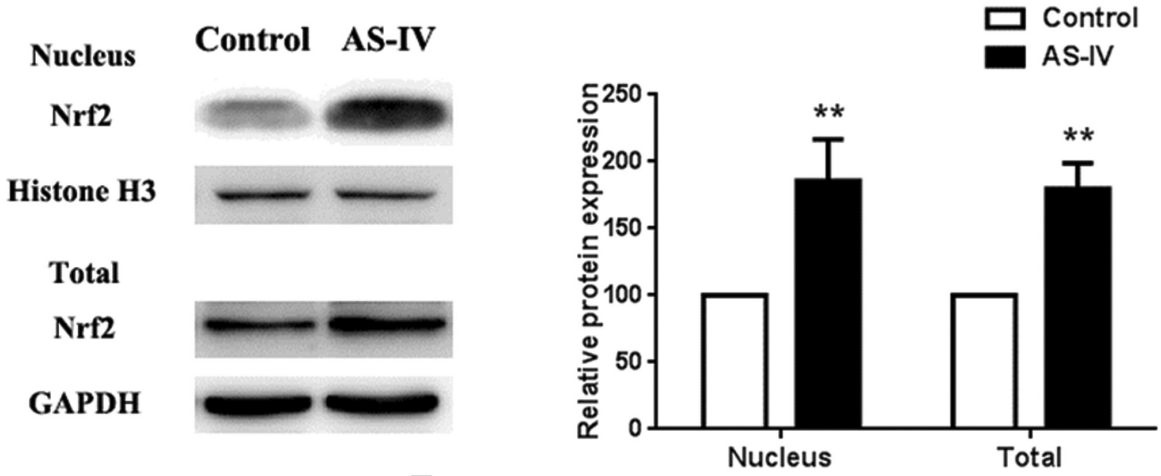

图 3 AS-IV 增加胞核 Nrf2、总 Nrf2 的蛋白水平

Fig. 3 AS-IV causes induction of both nuclear and total Nrf2 protein expression

Note: Data are expressed as $\bar{x}\pm$ SD, n=3. $^{**}P<0.01$, compared with control group.

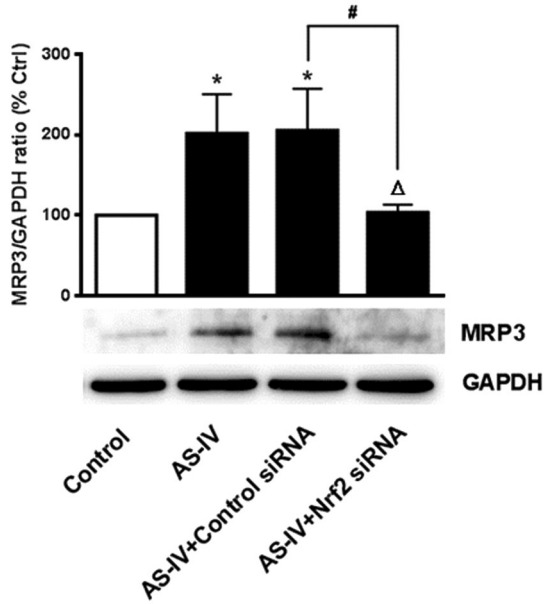

图 4 Nrf2 siRNA 干扰阻断了 AS-IV 对 MRP3 蛋白的上调

Fig. 4 Transfection of HepG2 cells with Nrf2 siRNA abolished AS-IV-induced MRP3 expression

Note: Data are expressed as $\bar{x}\pm$ SD, n=3. $^{*}P<0.05$, compared with control group; $^{\Delta}P<0.05$, compared with AS-IV group; $^{\#}P<0.05$, compared with AS-IV+Nrf2 siRNA group.

本研究发现了 AS-IV 调节 MRP3 的功能和机制,AS-IV 可通过上调 MRP3 的蛋白表达,增加其外排转运功能,通过增加胞核及总 Nrf2 的蛋白水平上调 MRP3 的表达。然而,由于缺乏针对 MRP3 的特异性底物,我们在细胞试验中无法验证 Nrf2 在 AS-IV 调节 MRP3 转运功能中的作用,且 AS-IV 对 MRP3 或其他 MRP 的影响是否能够引起其他药物代谢的改变,产生相互作用,这些问题仍需进一步动物实验探索。本研究为 AS-IV 调节转运蛋白 MRP3 提供了直接的证据,为临床 AS-IV 与其他药物合用时可能产生的 DDIs 提供了理论依据。

参 考 文 献(References)

[1] Zhang G, Ou R, Li F, et al. Regulation of drug-metabolizing enzymes and efflux transporters by Astragali radix decoction and its main bioactive compounds: Implication for clinical drug-drug interactions [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 180: 104-113

[2] Xu F, Zhang Y, Xiao S, et al. Absorption and metabolism of Astragali radix decoction: in silico, in vitro, and a case study in vivo [J]. Drug Metab Dispos, 2006, 34(6): 913-924

[3] Van der Schoor LW, Verkade HJ, Kuipers F, et al. New insights in the biology of ABC transporters ABCC2 and ABCC3: impact on drug disposition [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2015, 11 (2): 273-293

[4] Jetter A, Kullak-Ublick GA. Drugs and hepatic transporters: A review [J]. Pharmacol Res, 2019

[5] Tai T, Mi QY, Ji JZ, et al. Enhanced Platelet Response to Clopidogrel in Abcc3-deficient Mice Due to Its Increased Bioactivation [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2016, 68(6): 433-440

[6] Kim J, Martin A, Yee J, et al. Effects of Hepatic Ischemia-Reperfusion Injuries and NRF2 on Transcriptional Activities of Bile Transporters in Rats[J]. J Surg Res, 2019, 235: 73-82

[7] Chen P, Li J, Fan X, et al. Oleanolic acid attenuates obstructive cholestasis in bile duct-ligated mice, possibly via activation of NRF2-MRPs and FXR antagonism [J].Eur J Pharmacol, 2015, 765: 131-139

[8] Lou Y, Guo Z, Zhu Y, et al. Astragali radix and its main bioactive compounds activate the Nrf2-mediated signaling pathway to induce P-glycoprotein and breast cancer resistance protein [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 228: 82-91

[9] Teng S, Jekerle V, Piquette-Miller M. Induction of ABCC3 (MRP3) by pregnane X receptor activators [J]. Drug Metab Dispos, 2003, 31(11): 1296-1299

(下转第 4444 页)

demiol, 2018, 10: 1583-1598

[21] Braga Filho J a F, Abreu A G, Rios C E P, et al. Prophylactic Treatment With Simvastatin Modulates the Immune Response and Increases Animal Survival Following Lethal Sepsis Infection [J]. Front Immunol, 2018, 9: 2137

[22] Caldwell A, Morick J N, Jentsch A M, et al. Impact of insulin on the intestinal microcirculation in a model of sepsis-related hyperglycemia [J]. Microvasc Res, 2018, 119: 117-128

[23] Ding X, Tong Y, Jin S, et al. Mechanical ventilation enhances extrapulmonary sepsis-induced lung injury: role of WISP1-alphavbeta5 integrin pathway in TLR4-mediated inflammation and injury [J]. Crit Care, 2018, 22(1): 302

[24] Drechsler S, Zipperle J, Rademann P, et al. Splenectomy modulates early immuno-inflammatory responses to trauma-hemorrhage and protects mice against secondary sepsis[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 14890

[25] Grant A L, Letson H L, Morris J L, et al. Tranexamic acid is associated with selective increase in inflammatory markers following total knee arthroplasty (TKA): a pilot study [J]. J Orthop Surg Res, 2018, 13(1): 149

[26] Hong G S, Zillekens A, Schneiker B, et al. Non-invasive transcutaneous auricular vagus nerve stimulation prevents postoperative ileus and endotoxemia in mice[J]. Neurogastroenterol Motil, 2018: e13501

[27] Li Z, Jia Y, Han S, et al. Klf4 Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Inflammation by Inducing Expression of MCP-1 Induced Protein 1 to Deubiquitinate TRAF6 [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47 (6): 2278-2290

[28] Neyra J A, Mescia F, Li X, et al. Impact of Acute Kidney Injury and CKD on Adverse Outcomes in Critically Ill Septic Patients[J]. Kidney Int Rep, 2018, 3(6): 1344-1353

[29] Rahmel T, Nowak H, Rump K, et al. The aquaporin 5 -1364A/C promoter polymorphism impacts on resolution of acute kidney injury in pneumonia evoked ARDS[J]. PLoS One, 2018, 13(12): e0208582

[30] Rakkolainen I, Lindbohm J V, Vuola J. Factors associated with acute kidney injury in the Helsinki Burn Centre in 2006-2015 [J]. Scand J Trauma Resusc Emerg Med, 2018, 26(1): 105

[31] Rousta A M, Mirahmadi S M, Shahmohammadi A, et al. Protective effect of sesamin in lipopolysaccharide-induced mouse model of acute kidney injury via attenuation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2018: 1-7

[32] Shao Y, Li J, Cai Y, et al. The functional polymorphisms of miR-146a are associated with susceptibility to severe sepsis in the Chinese population[J]. Mediators Inflamm, 2014, 2014: 916202

[33] Matsumoto H, Ogura H, Shimizu K, et al. The clinical importance of a cytokine network in the acute phase of sepsis [J]. Sci Rep, 2018, 8 (1): 13995

[34] Pan Y, Wang J, Xue Y, et al. GSKJ4 Protects Mice Against Early Sepsis via Reducing Proinflammatory Factors and Up-Regulating MiR-146a[J]. Front Immunol, 2018, 9: 2272

[35] Raymond S L, Hawkins R B, Stortz J A, et al. Sepsis is associated with reduced spontaneous neutrophil migration velocity in human adults[J]. PLoS One, 2018, 13(10): e0205327

[36] Moman R N, Ostby S A, Akhoundi A, et al. Impact of individualized target mean arterial pressure for septic shock resuscitation on the incidence of acute kidney injury: a retrospective cohort study [J]. Ann Intensive Care, 2018, 8(1): 124

(上接第 4410 页)

[10] Ghanem CI, Manautou JE. Modulation of Hepatic MRP3/ABCC3 by Xenobiotics and Pathophysiological Conditions: Role in Drug Pharmacokinetics[J]. Curr Med Chem, 2019, 26(7): 1185-1223

[11] Pan YQ, Mi QY, He BS, et al. The molecular mechanism underlying the induction of hepatic MRP3 expression and function by omeprazole[J]. Biopharm Drug Dispos, 2015, 36(4): 232-244

[12] Ceballos MP, Decá ndido G, Quiroga AD, et al. Inhibition of sirtuins 1 and 2 impairs cell survival and migration and modulates the expression of P-glycoprotein and MRP3 in hepatocellular carcinoma cell lines[J]. Toxicol Lett, 2018, 289: 63-74

[13] Lee G, Piquette-Miller M. Influence of IL-6 on MDR and MRP-mediated multidrug resistance in human hepatoma cells [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2001, 79(10): 876-884

[14] Tu W, Wang H, Li S, et al. The Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE Signaling Pathway in Chronic Diseases[J]. Aging Dis, 2019, 10(3): 637-651

[15] Maher JM, Dieter MZ, Aleksunes LM, et al. Oxidative and electrophilic stress induces multidrug resistance-associated protein transporters via the nuclear factor-E2-related factor-2 transcriptional pathway[J]. Hepatology, 2007, 46(5): 1597-1610

[16] Chen P, Zeng H, Wang Y, et al. Low dose of oleanolic acid protects against lithocholic acid-induced cholestasis in mice: potential involvement of nuclear factor-E2-related factor 2-mediated upregulation of multidrug resistance-associated proteins [J]. Drug Metab Dispos, 2014, 42(5): 844-852

[17] Ning C, Gao X, Wang C, et al. Ginsenoside Rg1 protects against acetaminophen-induced liver injury via activating Nrf2 signaling pathway in vivo and in vitro[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2018, 98: 58-68

[18] Anwar-Mohamed A, Degenhardt OS, El Gendy MA, et al. The effect of Nrf2 knockout on the constitutive expression of drug metabolizing enzymes and transporters in C57Bl/6 mice livers[J]. Toxicol In Vitro, 2011, 25(4): 785-795

[19] Li L, Huang W, Wang S, et al. Astragaloside IV Attenuates Acetaminophen-Induced Liver Injuries in Mice by Activating the Nrf2 Signaling Pathway[J]. Molecules, 2018, 23(8): E2032

[20] Yan W, Xu Y, Yuan Y, et al. Renoprotective mechanisms of Astragaloside IV in cisplatin-induced acute kidney injury[J]. Free Radic Res, 2017, 51(7-8): 669-683