

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.001937

miR-221/222 及其靶基因在妊娠期肝内胆汁淤积症发病机制中作用的研究

王林若, 刘 建

(重庆医科大学附属第二医院妇产科, 重庆 400010)

【摘要】目的:研究微小核糖核酸(MicroRNA, miRNA)221/222 及其靶基因在正常孕妇和妊娠期肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)孕妇胎盘中表达的差异,并通过细胞实验过表达方法研究 miR-221/222 对靶基因表达影响,探讨其在 ICP 发病机制中的作用。**方法:**搜集 2015 年 9 月到 2016 年 3 月在重庆医科大学附属第二医院妇产科行剖宫产分娩的正常孕妇和 ICP 孕妇的胎盘组织各 20 例,直接提取 miRNA,采用实时荧光定量逆转录 PCR(qRT-PCR)检测 miR-221/222 在 2 组胎盘组织中的表达情况;预测 miR-221/222 的靶基因是顶端钠依赖性胆酸转运体(apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT, 又称 SLC10A2);Western blot 检测 ASBT 在 ICP 和正常胎盘组织中的表达情况;用 Lipofectaine2000 脂质体包裹合成的 miR-221/222 mimic 转染正常滋养细胞 HTR-8;qRT-PCR 检测 miR-221/222 表达水平;蛋白质印迹法检测转染后 ASBT 蛋白表达。**结果:**①经过内参 U6 的校正,miR-221 在 ICP 胎盘表达量为 1.066 ± 0.044 ,正常胎盘表达量为 0.053 ± 0.009 ;miR-222 在 ICP 胎盘表达量为 13.724 ± 4.355 ,正常胎盘表达量为 0.833 ± 0.189 。可见 miR-221/222 在 ICP 胎盘中的表达明显上调($P < 0.05$)。②SLC10A2 在 ICP 组中的表达量为 0.328 ± 0.102 ,在正常组中的表达量为 0.604 ± 0.119 ,其在 ICP 组的表达较正常组的表达下调($P = 0.000$)。③经过内参 ACTIN 校正,ASBT 在转染 miR-221 组细胞内表达量为 0.338 ± 0.064 ,对照组表达量为 0.583 ± 0.040 ;ASBT 在转染 miR-222 组细胞内表达量为 0.371 ± 0.024 ,对照组表达量为 0.624 ± 0.031 ,可见 ASBT 在转染组中较对照组表达下调。**结论:**miR-221/222 在 ICP 胎盘组织中表达升高,而其预测靶基因 ASBT 的表达则下降;细胞实验中,miR-221/222 转染组靶基因 ASBT 表达下降。两者之间可能存在负调控关系。可能由此影响了孕妇胆汁酸在肠道的重吸收及在肝脏的转运而导致妊娠期肝内胆汁淤积。

【关键词】妊娠期肝内胆汁淤积症;miR-221/222;顶端钠依赖性胆酸转运体**【中图分类号】**R714.25**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2018-06-04

Role of miR-221/222 and its target genes in the pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy

Wang Linruo, Liu Jian

(Department of Obstetrics and Gynecology, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the difference in the expression of microRNA(miR)-221/222 and its target gene in the placenta between normal pregnant women and pregnant women with intrahepatic cholestasis of pregnancy(ICP), the effect of miR-221/222 on the expression of target gene according to a cell experiment, and the role of miR-221/222 in the pathogenesis of ICP. **Methods:** A total of 40 placenta samples were collected from normal pregnant women and pregnant women with ICP, all of whom underwent cesarean section in The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from September 2015 to March 2016, with 20 samples from each group. miRNA was extracted and qRT-PCR was used to measure the expression of miR-221/222 in the placenta. Apical sodium-dependent bile acid transporter(ASBT), also known as SLC10A2, was predicted to be the target gene of miR-221/222, and Western blot was used to measure the expression of ASBT in the placenta from normal pregnant women and pregnant women with ICP. Normal HTR-8 cells were transfected with miR-221/222 mimic wrapped with Lipofectaine 2000; qRT-PCR was used to measure the expression of miR-221/222, and Western blot was used to measure the expression of ASBT protein after transfection. **Results:** After correction with the internal control U6, the expression of miR-221 in the ICP and normal placenta was 1.066 ± 0.044 and 0.053 ± 0.009 , respectively, and the expression

作者介绍: 王林若, Email: 387724947@qq.com,

研究方向: 妊娠并发症。

通信作者: 刘 建, Email: 410581845@qq.com。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20181116.1058.002.html>

(2018-11-19)

of miR-222 in the ICP and normal placenta was 13.724 ± 4.355 and 0.833 ± 0.189 , respectively, suggesting that miR-221/222 was significantly upregulated in the ICP placenta ($P < 0.05$). The ICP group had significantly lower expression of SLC10A2 than the normal group (0.328 ± 0.102 vs. 0.604 ± 0.119 , $P = 0.000$). After correction with the internal control ACTIN, the expression of ASBT was 0.338 ± 0.064 in the miR-221 transfection group and 0.583 ± 0.040 in the control group; the expression of ASBT was 0.371 ± 0.024 in the miR-222 transfection group and 0.624 ± 0.031 in the control group, suggesting that the transfection group had significantly lower expression of ASBT than the control group. **Conclusion:** There is an increase in the expression of miR-221/222 in the ICP placenta and a reduction in the expression of its predicted target gene ASBT. The cell experiment shows a reduction in the expression of ASBT in the miR-221/222 transfection group. There may be a negative regulation between them, which affects the reabsorption of bile acid in the intestinal tract and its transport in the liver among pregnant women, thus leading to ICP.

【Key words】intrahepatic cholestasis of pregnancy; miR-221/222; apical sodium-dependent bile acid transporter

妊娠肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)是妊娠特有疾病,在我国长江流域、智利、瑞典等地发病率较高。临床上以中晚期孕妇皮肤瘙痒和胆汁酸升高为特点,其对母体的影响不大,但易发生胎儿窘迫、羊水浑浊、早产甚至难以预测的胎儿突然死亡,使围产儿的发病率和死亡率都明显增高^[1]。由于发病机制尚不清楚,难以进行有效的预防及对因治疗,故 ICP 发病机制的研究一直是妊娠并发症研究领域的热点及难点。

microRNA 是一组非编码单链 RNA,与信使 RNA (messenger RNA, mRNA)通过互补配对相结合,诱导靶 mRNA 降解,负调控转录后水平的靶基因^[2]。据研究报道,许多 miRNA 与一些妊娠并发症及合并症的发生发展有关,如 miR-18b、miR-19a、miR-152、miR-181a 等与子痫前期、miR-29、miR-375 等与妊娠期糖尿病的发生机制都有关系^[3-5],可见 miRNA 参与了一些妊娠相关疾病的发病机制中。妊娠状态下,母体血浆中的 miRNA 种类繁多,且随孕周而变化。一些胎盘产生的 miRNA 随着妊娠结束而下调或者消失,可以认为 miRNA 在妊娠合并症及并发症的发生发展中起着不可小视的作用,研究胎盘 miRNA 在妊娠合并症发生中机制是有意义的。

Matsuzaki 等^[6]报道,当细胞暴露在胆酸环境中时,miR-221/222 和法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)表达增加,提示 miR-221/222 与高胆酸环境相关^[7]。也有相关研究报道过,miR-221/222 与雌激素受体相关。综上推测,miR-221/222 可能与 ICP 发病机制相关,因此选择其作为研究对象。miR-221 是位于性染色体 X 上的串联编码 miRNA, miR-

222 与它相距 227 bp,两者有着极为相似的核酸序列,因此在调控机制等方面可能会有同步化表现,其协同作用则体现在生物学功能方面^[8-9]。通过生物信息学软件分析预测,筛选出 ASBT 为 miR-221/222 的靶基因。之前的大量研究报道也证实 ASBT 与胆汁酸代谢有密切关系,参与了胆酸代谢的调控过程^[10-12]。本课题拟检测 miR-221/222 及 ASBT 在 ICP 与正常妊娠胎盘中的表达情况,并利用体外实验研究 miR-221/222 与 ASBT 之间相互联系,及其两者与 ICP 疾病的关系。通过对 miR-221/222 的研究,了解其如何调控靶基因,参与 ICP 的发病过程,为 ICP 发生机制在分子生物学层面的研究提供一个全新的思路。

1 材料与方法

1.1 一般材料

搜集 2015 年 9 月到 2016 年 3 月在重庆医科大学附属第二医院妇产科行剖宫产分娩,孕周为 35~40 周的正常孕妇(20 例)和 ICP 孕妇(20 例)的胎盘组织。术前沟通取得患者同意,并经伦理委员会同意进行研究。胎盘离体后,从胎盘母面中央及四周剪取 3~5 块 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ 胎盘组织。离体标本收取后立即保存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 液态氮中,防止 RNA 和蛋白质分解。记录患者相关信息(年龄、孕周、血清总胆汁酸、转氨酶等)。

ICP 组纳入标准(参照 2015 年 ICP 诊疗指南):①出现其他原因无法解释的皮肤瘙痒;②空腹血清总胆汁酸升高,总胆汁酸水平 $\geq 10\text{ }\mu\text{mol/L}$ 可诊断;③胆汁酸水平正常情况下出现肝功能异常,而不能用其他原因解释,即 ALT、AST 轻、中度升高;GGT 水平可升高,可伴间接胆红素和直接胆红素升高,以后者为主;④疾病相关症状在分娩后恢复正常,皮肤

瘙痒症状多在分娩后 1~2 d 消失,肝功能在产后 4~6 周恢复正常。正常组纳入标准:无妊娠并发症及合并症。排除标准:①妊娠前已患有肝脏、胆道疾病,自身免疫疾病;②合并妊娠期高血压疾病、妊娠期糖尿病。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂与仪器 Hipure Universal MIRNA kit(Magen 公司);ALL in one MIRNA First-Strand cDNA Synthesis kit(广州复能基因有限公司);ALL in one MIRNA qPCR kit(广州复能基因有限公司);MIR221/222(重庆博莱斯生物技术有限公司);人滋养细胞系 HTR-8 细胞由本实验室保存;1640 培养液(GIBCO 公司,美国);胎牛血清(GIBCO 公司,美国);Lipofectamine TM 2000 转染试剂盒(Invitrogen 公司,美国);第一抗体、第二抗体(北京中衫金桥生物有限公司);移液枪(Eppendorf 公司,法国);PVDF 膜(Millipore,美国);去离子水仪(PALL,Purelab Plus,美国);凝胶玻璃板、固定夹、垂直电泳槽(北京六一仪器厂);逆转录仪、RT-qPCR 仪(BIO-RAD 美国)。

1.2.2 miRNA 的提取 在液氮下取 25 mg 胎盘组织放入 2.5 mL 离心管中,加入 1 mL 试剂盒反应物,在超净台中用微量电动组织匀浆器对样品进行打散和匀浆,室温放置 2~3 min 让组织充分裂解,按试剂盒说明书提取 miRNA。

1.2.3 HTR-8 细胞培养 取-80℃冰箱中的 HTR-8 细胞进行复苏、培养。按 1:3 进行传代。转染前 1 天取生长到 60% 的细胞用 0.25% 胰酶消化,以合适的密度接种于 6 孔板中,每孔加入 2 mL 培养基,37℃、5% CO₂ 的孵箱中孵育,至转染时细胞整合度可达到 90%。

1.2.4 细胞瞬时转染 按 Lipofectamine2000 说明书,将 5 μL 脂质体 2000 与 245 μL Opti-MEM 培养液混合,室温静置 5 min;20 μL 的 mimic 或 inhibitor 与 230 μL Opti-MEM 混合后,将上述两者混合,室温静置 20 min,以便形成 miRNA/脂质体复合物。转染分为 5 组,即空白对照,miR-221 mimic、miR-221 inhibitor、miR-222 mimic、miR-222 inhibitor 组。每孔加入 500 μL 上述混合液体,再加入 Opti-MEM 1.5 mL,37℃、5%CO₂ 孵箱中孵育,取出进行下一步实验。

1.2.5 逆转录和 RT-PCR 根据试剂盒说明将上述提取的 miRNA 进行逆转录后,将得到的 cDNA 进行定量并稀释 5 倍,取稀释后的 2 μg cDNA 用于 qPCR。扩增条件:95℃ 3 min

预变性,95℃ 30 s 变性,55℃ 30 s 退火,39 个循环的扩增。将数据拷贝并分析。

1.2.6 蛋白质印迹法 制备 SDS-PAGE 凝胶,将总蛋白样品进行变性电泳,凝胶转膜及其检测,用 Image J 软件分析灰度值。

1.3 统计学分析

数据采用 GraphpadPrism 5.0 及 SPSS 21.0 统计软件分析,数据采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,对满足正态分布的两组独立样本采用 *t* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 样本特征分析

胎盘组织样本取自孕周为 35~40 周的行剖宫产的 12 例 ICP 孕妇及 8 例正常孕妇,从年龄、孕周、血清总胆汁酸、转氨酶方面分析其样本特征(表 1),2 组在年龄及孕周间无统计学差异;其他指标均有统计学差异。

2.2 实验结果

2.2.1 不同组孕妇胎盘组织中 miR-221/222 表达 通过 RT-qPCR 检测 miR-221 在 ICP 组中的表达明显升高,为正常妊娠组的 7.7 倍,经 *t* 检验, $t=2.445$, $P=0.025$;miR-222 在 ICP 组中表达为正常妊娠组的 8 倍($t=2.834$, $P=0.011$);可见 miR-221/222 在 ICP 胎盘组织与正常组织间的表达之间的差异有统计学意义(图 1、2)。

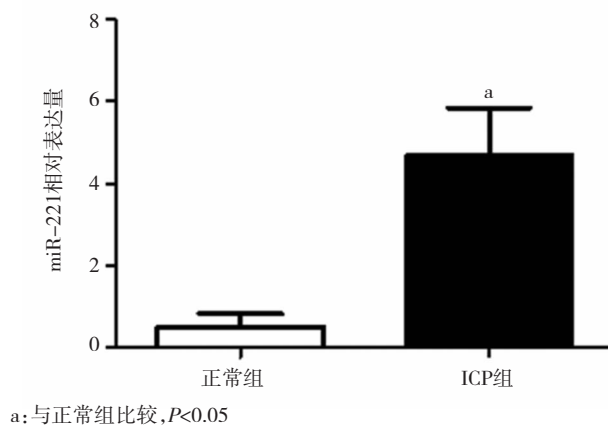
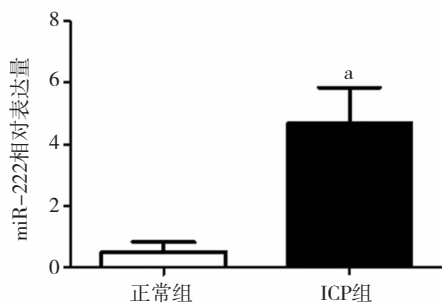


图 1 miR-221 在正常胎盘组织及 ICP 胎盘组织中表达

表 1 胎盘组织特征

指标	ICP 组 (n=2)	正常组 (n=8)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	29.17 ± 0.84	31.75 ± 1.50	1.615	NS
孕周(周)	37.07 ± 0.51	38.91 ± 0.17	1.930	NS
总胆汁酸(μmol/L)	22.28 ± 1.90	4.52 ± 1.57	6.659	0.000 ^c
谷丙转氨酶(U/L)	99.50 ± 27.59	10.25 ± 2.67	2.612	0.018 ^a
谷草转氨酶(U/L)	82.92 ± 23.06	19.75 ± 3.47	2.205	0.041 ^a

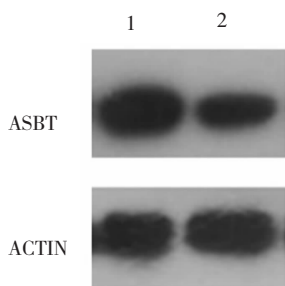
注:a,与正常组比较, $P<0.05$;c:与正常组比较, $P=0.000$;NS 代表两级样本无统计学差异



a: 与正常组比较, $P < 0.05$

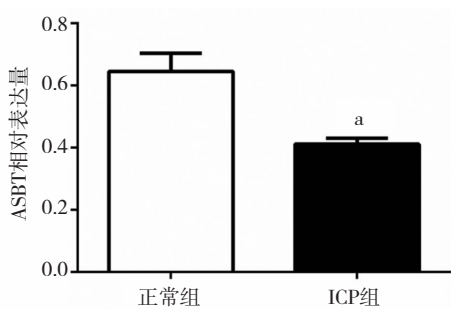
图2 miR-222 在 ICP 胎盘组织与正常胎盘组织中的表达

2.2.2 不同组孕妇胎盘组织中 ASBT 蛋白表达 通过 Western blot 检测靶基因 ASBT 在正常组织中的表达为 ICP 胎盘组织的 1.5 倍。经 t 检验, $t=2.927$, $P=0.000$, 差异有统计学意义(图 3、图 4)。



1. 正常组; 2. ICP 组

图3 ASBT 在 ICP 胎盘组织中表达较正常组织下调



a: 与正常组比较, $P < 0.05$

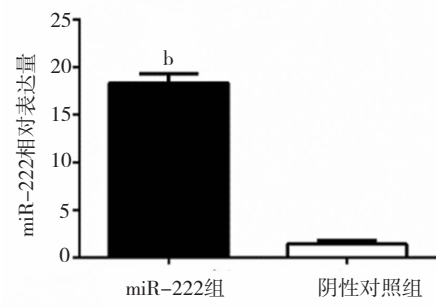
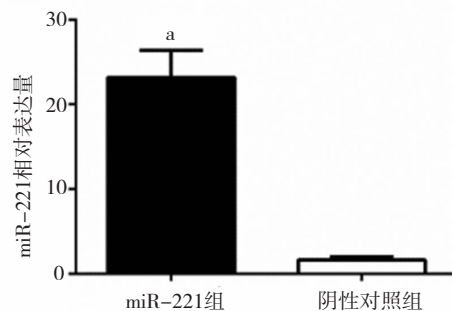
图4 ASBT 在 ICP 与正常胎盘组织中的表达情况

2.2.3 转染后 HTR-8 细胞内 miR-221/222 表达检测 通过 RT-qPCR 检测转染后 miR-221 和 miR-222 在 HTR-8 细胞内表达量, miR-221 组与对照组经 t 检验, 表达量为对照组的 10.6 倍, $t=2.829$, $P=0.011$; miR-222 组与对照组经 t 检验, 表达量为对照组的 10.3 倍, $t=2.797$, $P=0.002$, 差异有统计学意义(图 5)。

2.3 转染后 ASBT 蛋白表达情况

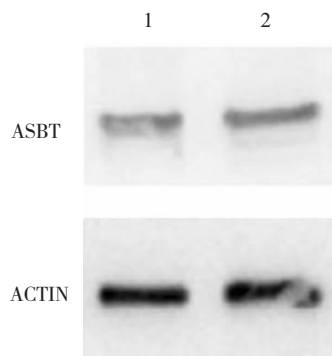
通过 Western blot 检测转染后 ASBT 在 HTR-8 中的表达。miR-221 组与对照组经 t 检验, ASBT 表达下调 1.7 倍, $t=$

2.332, $P=0.032$; miR-222 组与对照组经 t 检验, ASBT 表达下调 1.6 倍, $t=3.459$, $P=0.003$ 。差异有统计学意义(图 6~9)。



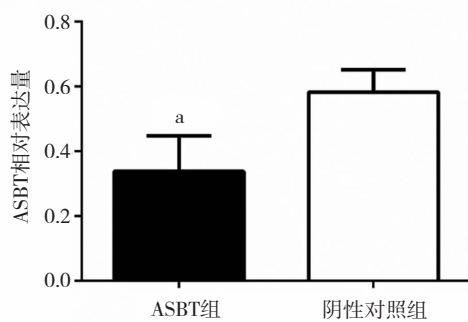
a: 与阴性对照组比较, $P < 0.05$; b: 与阴性对照组比较, $P < 0.01$

图5 转染后 miR-221/222 在 HTR-8 细胞中表达



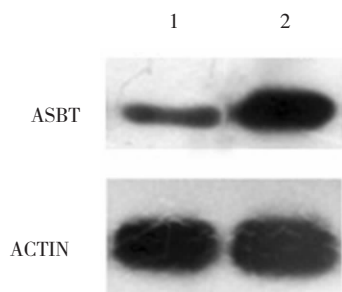
1. miR-221 组; 2. 阴性对照组

图6 miR-221 mimic 转染后 ASBT 在 HTR-8 细胞中表达



a: 与阴性对照组比较, $P < 0.05$

图7 miR-221 mimic 转染后 ASBT 在 HTR-8 细胞中表达



1. miR-222 组; 2. 阴性对照组

图 8 miR-222 mimic 转染后 ASBT 在 HTR-8 细胞中表达

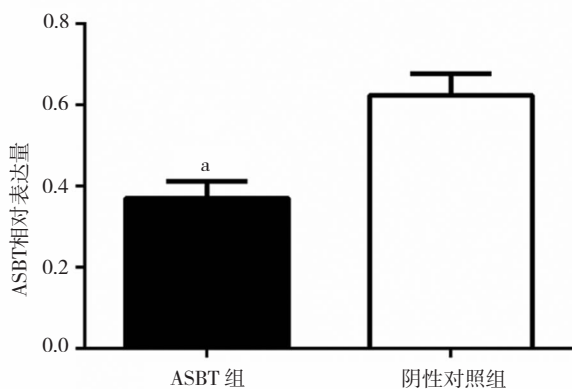
a: 与阴性对照组比较, $P < 0.05$

图 9 miR-222 mimic 转染后 ASBT 在 HTR-8 细胞中表达

3 讨论

妊娠期肝内胆汁淤积症是妊娠期特有疾病,临床以孕妇妊娠中晚期皮肤瘙痒和胆汁酸升高为特点,易危害胎儿而发生宫内窘迫、羊水胎粪污染、早产甚至不能预测的胎儿突然死亡,明显升高了围产儿的发病率和死亡率。目前 ICP 发病机制尚不明确,故难有规范化的治疗手段及良好效果。

近年的研究表明,多个 miRNA 与妊娠并发症的发病机制、预后转归存在密切关系,甚至可能成为其药物治疗的靶点。Matsuzaki 等报道,当细胞暴露在胆酸环境中时,miR-221/222 和 FXR 表达增加。FXR 参与胆汁酸调节的机制研究已有大量研究。而关于 miR-221/222 的研究多集中在肿瘤病理、妊娠高血压疾病、妊娠期糖尿病发病机制研究^[6,13-14],其对 ICP 中胆汁酸转运的调节机制研究上尚属空白。因此,从分子及基因学角度研究 miR-221/222 及其

下游调控靶基因在 ICP 胎盘表达情况,对 ICP 的发生发展过程和影响机制具有重要的研究意义。

作为 miR-221/222 的预测靶基因,ASBT 属于溶质载体家族(solute carrier,SLC)转运蛋白,是一种重要的载体蛋白,位于染色体 13q33 上,具有 6 个外显子,DNA 序列有 25 kb。肝脏中胆汁酸的合成主要受来自肠肝再循环的胆汁酸的负反馈调节^[15-17]。前期研究表明,ASBT 基因缺失的小鼠,由于胆汁酸正常的肠肝循环被打破,胆固醇 7-羟化酶(cholesterol 7- α hydroxy-lase,CYP7A1)mRNA 的表达以及胆汁酸的合成都有所增加^[18]。另一方面,ASBT 基因敲减后动物体内胆固醇降低,间接提示胆汁酸合成增加^[19]。由于人体内胆汁酸的肝肠循环是调节胆汁酸合成速率的重要机制之一。因此,胆汁酸的合成循环及代谢与 ASBT 基因的表达高低有密切的联系。

本研究发现,miR-221/222 在 ICP 病理胎盘的表达量较正常组均有明显增加,提示 miR-221/222 的高表达可能与 ICP 发病具有相关性;而 ASBT 蛋白表达在 ICP 胎盘组织较正常胎盘组织降低,推测 ICP 孕妇胎盘中 ASBT 低表达可能与 miR-221/222 的表达增加有关联。因此我们在细胞实验中,模拟 ICP 孕妇胎盘中 miR-221/222 表达水平,在滋养细胞中过表达 miR-221/222,观察到 ASBT 蛋白水平明显下调;而当抑制 miR-221/222 表达,ASBT 的蛋白表达水平明显上调。根据该结果,推论 miR-221/222 可能与其靶基因 ASBT 存在负性调控关系。即 ICP 胎盘组织中 miR-221/222 表达上调,导致 ASBT 表达下降,此时胆汁酸载体蛋白的转运功能降低,使胆汁酸的排泄减少而导致胆汁淤积;同时 ASBT 的下调抑制了胆汁酸肠肝循环,使胆汁酸重吸收减少,引起肝内胆汁酸的继发性生成及分泌增加;加上 ICP 时肝细胞膜流动性下降以及膜活性受抑制,胆汁无法顺利的排入胆道系统,进一步加重胆汁淤积。所以,miR-221/222 与其靶基因的负调控机制可能参与了 ICP 发生发展过程。但具体的分子调节机制还有待深入的研究。

综上所述,本实验研究发现 ICP 胎盘组织 miR-221/222 的表达增加以及 ASBT 的表达下降,其在

ICP 胎盘中存在负相关性表达可能参与了 ICP 时胆汁酸代谢的调节过程。但 ICP 时什么机制导致了 miR-221/222 与 ASBT 的表达差异,尚需进行充分的研究。下一步将通过基因调控、单克隆抗体干扰以及免疫共沉淀等途径,进一步阐述经 miR-221/222 调控的 ASBT 在 ICP 状态下对胆汁酸的合成代谢及循环的分子机制。就已有的实验结果而言,有助于拓宽对 ICP 发病机制在分子层面的进一步研究,具有重要的理论与临床意义。

参 考 文 献

- [1] 蔡艾杞,刘路遥,张应凤,等. 妊娠期肝内胆汁淤积症的研究进展[J]. 现代妇产科进展,2016,25(11):871-873.
- [2] Akehurst C, Small HY, Sharafetdinova L, et al. Differential expression of microRNA-206 and its target genes in preeclampsia[J]. J Hypertens, 2015, 33(10):2068-2074.
- [3] Hromadnikova I, Kotlabova K, Hympanova L, et al. Gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction induce dysregulation of cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs in maternal whole peripheral blood[J]. Thromb Res, 2016, 137: 126-140.
- [4] 李 伟,蔡德鸿. 妊娠期糖尿病妇女外周血 miR-29、miR-375 的表达及临床意义[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2014,59(3):334-336.
- [5] Hu Y, Li P, Hao S, et al. Differential expression of microRNAs in the placenta of Chinese patients with severe pre-eclampsia[J]. Clinical Chemistry & Laboratory Medicine, 2009, 47(8):923-929.
- [6] Matsuzaki J, Suzuki H, Tsugawa H, et al. Bile acids increase levels of microRNAs 221 and 222, leading to degradation of CDX2 during esophageal carcinogenesis[J]. Gastroenterology, 2013, 145(6):1300-1311.
- [7] Shi Z, Zhao C, Guo X, et al. Differential expression of microRNAs in omental adipose tissue from gestational diabetes mellitus subjects reveals miR-222 as a regulator of ER α expression in estrogen-induced insulin resistance[J]. Endocrinology, 2014, 155(5):1982-1990.
- [8] Zhang X, Ling YU, Ding Y. Human leukocyte antigen G and miR-148a are associated with the pathogenesis of intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Experimental & Therapeutic Medicine, 2014, 8(6):1701-1706.
- [9] 王非一凡,李学军. miR221/222 家族在胶质瘤中的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志,2014,41(6):565-570.
- [10] da Silva TC, Polli JE, Swaan PW. The solute carrier family 10 (SLC10): beyond bile acid transport[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2013, 34(2-3):252-269.
- [11] 刘洪涛,何红伟,王菊仙,等. 顶端钠依赖性胆酸转运体及其抑制剂的研究进展[J]. 中国新药杂志,2012,21(14):1611-1615.
- [12] Balakrishnan A, Polli JE. Apical sodium dependent bile acid transporter (ASBT, SLC10A2): a potential prodrug target[J]. Molecular Pharmaceutics, 2006, 3(3):223-230.
- [13] Wei Y, Lai X, Yu S, et al. Exosomal miR-221/222 enhances tamoxifen resistance in recipient ER-positive breast cancer cells[J]. Breast Cancer Research & Treatment, 2014, 147(2):423-431.
- [14] Gan R, Yang Y, Yang X, et al. Downregulation of miR-221/222 enhances sensitivity of breast cancer cells to tamoxifen through upregulation of TIMP3[J]. Cancer Gene Therapy, 2014, 21(7):290-296.
- [15] Chothe PP, Swaan PW. Resveratrol promotes degradation of the human bile acid transporter ASBT(SLC10A2)[J]. Biochemical Journal, 2014, 459(2):301-312.
- [16] Shi AX, Zhou Y, Zhang XY, et al. Irinotecan-induced bile acid malabsorption is associated with down-regulation of ileal ASBT(SLC10A2) in mice[J]. Eur J Pharm Sci, 2017, 102:220-229.
- [17] Bijvelds MJ, Jorna H, Verkade HJ, et al. Activation of CFTR by ASBT-mediated bile salt absorption[J]. American Journal of Physiology Gastrointestinal & Liver Physiology, 2015, 289(5):G870-879.
- [18] 兰 易,刘 建,邹姝丽,等. FXR/CYP7A1 在妊娠期肝内胆汁淤积症孕妇胆汁酸代谢中的作用[J]. 第三军医大学学报,2008,30(16):1561-1563.
- [19] Li H, Xu G, Shang Q, et al. Inhibition of ileal bile acid transport lowers plasma cholesterol levels by inactivating hepatic farnesoid X receptor and stimulating cholesterol 7 α -hydroxylase[J]. Metabolism-clinical & Experimental, 2004, 53(7):927-932.

(责任编辑:张辉洁)