

胆汁淤积下FGF19-ERK通路可上调MRP3/4表达 减轻肝细胞损伤

于文静¹ 师盼¹ 潘琼² 柴进² 宋淑亮^{1*}

(¹山东大学威海校区海洋学院, 威海 264209;

²陆军军医大学第一附属医院西南医院消化科胆汁淤积肝病中心, 重庆 400038)

摘要 该文采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)、蛋白印迹实验(Western blot)检测成纤维细胞因子19(fibroblast growth factor 19, FGF19)处理肝细胞癌细胞系HepG2后细胞自分泌的FGF19; 具有胆汁酸排泌作用的多药耐药性蛋白3(multidrug resistance-associated protein 3, MRP3)和多药耐药性蛋白4(multidrug resistance-associated protein 4, MRP4)表达量的改变对胆汁淤积条件下肝细胞的保护作用。结果表明, 使用FGF19处理HepG2细胞, MRP3、MRP4的mRNA和蛋白表达水平均显著上调并呈浓度和时间依赖性。Western blot进一步证实FGF19处理细胞可激活磷酸化细胞外信号调节激酶(extracellular signal related kinase, ERK)信号通路; 使用ERK信号通路的特异性小分子抑制剂(PD98059)预处理HepG2再加入100 ng/mL的FGF19刺激细胞, 与未加入PD98059的对照组相比, MRP3、MRP4的mRNA水平和蛋白水平均被抑制。综上所述, FGF19通过调控ERK信号通路特异性地上调MRP3和MRP4表达水平, 在胆汁淤积条件下可增加胆汁酸排泌以保护肝细胞。

关键词 成纤维细胞因子19; MRP3/4; ERK信号通路; 胆汁淤积

Up-Regulated the Expression of MRP3 and MRP4 through FGF19-ERK Pathway to Protect Hepatocytes Under Cholestasis

Yu Wenjing¹, Shi Pan¹, Pan Qiong², Chai jin², Song Shuliang^{1*}

(¹China Marine College, Shandong University at Weihai, Weihai 264209, China; ²Cholestatic Liver Diseases Center and Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract In this study, qRT-PCR and Western blot were used to detect the change expression of autocrine fibroblast growth factor 19 (FGF19), amultidrug resistance-associated protein 3 (MRP3) and multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4), when the HepG2 cells were treated with FGF19. The results showed that the expression of MRP3 and MRP4 both in mRNA level and protein level were up-regulated in a concentration- and time-dependent manner. It was further confirmed by Western blot that the protein level of phosphorylated extracellular signal related kinase (p-ERK) was increased, when treated the HepG2 cells with FGF19. When the HepG2 cells were pretreated with PD98059, specific small molecule inhibitor of ERK signaling pathway, the expression of MRP3 and MRP4 was decreased, comparing to control group without PD98059. The results indicated

收稿日期: 2019-01-11 接受日期: 2019-04-28

国家自然科学基金(批准号: 81770583)和山东省自然科学基金(批准号: ZR2017MH04)资助的课题

*通讯作者. Tel: 13721935592, E-mail: songshuliang@sdu.edu.cn

Received: January 11, 2019 Accepted: April 28, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81770583) and Shandong Natural Science Foundation(Grant No.ZR2017MH04)

*Corresponding author. Tel: +86-13721935592, E-mail: songshuliang@sdu.edu

网络出版时间: 2019-09-12 15:01:00 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190912.1500.034.html>

that FGF19 specifically mediated up-regulation of MRP3 and MRP4 by regulating ERK signaling pathway, and enhanced hepatoprotection by increasing bile acid excretion under cholestasis conditions.

Keywords fibroblast factor 19 (FGF19); multidrug resistance-associated protein 3/4 (MRP3/4); ERK; cholestasis

胆汁淤积(cholestasis)是由于胆汁分泌及排泄障碍引起的常见的临床综合症,伴随着病情的发展可能会出现肝纤维化、肝硬化,甚至肝功衰竭的现象。在胆汁淤积发生过程中,机体为保护肝脏并减轻肝损伤,会发生一些适应性反应,包括胆汁酸合成的改变和胆汁酸转运蛋白的变化^[1]。

成纤维细胞生长因子19(fibroblast growth factor 19, FGF19)是一种内分泌激素,属于成纤维细胞生长因子亚家族的成员之一,主要由回肠分泌(在啮齿动物中以FGF15形式存在),在人肝脏和胆囊中也有表达^[2],其合成受核胆汁酸法尼醇受体(farnesoid X receptor, FXR)的调控^[3]。在某些类型的胆汁淤积患者肝脏中,FGF19的分泌水平增加,以此作为机体适应性的保护机制。研究发现,FGF19减轻胆汁淤积的主要机理为通过小异二聚体伴侣受体(small heterodimer partner, SHP)信号通路降低胆汁酸合成关键限速酶胆汁酸-合成酶胆固醇-7- α -羟化酶(cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1)的表达水平,减少胆汁酸的合成^[4]。近期研究发现,FGF19可通过ERK-SHP信号通路,抑制一种新的胆酸排泌蛋白有机阴离子转运肽3A1(organic anion transporting polypeptide 3A1, OATP3A1)的表达,减少胆汁酸的合成,从而减轻胆汁淤积^[5-6]。但FGF19对其他胆酸转运蛋白调控还需进行进一步研究。

胆汁酸转运蛋白分为胆汁酸摄取转运蛋白和胆汁酸外排转运蛋白。胆汁酸摄取转运蛋白主要为钠离子非依赖性有机阴离子转运蛋白家族(organic anion transporting polypeptides, OATPs)、钠离子牛磺胆盐共转运体(sodium taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP)和顶端钠依赖性胆盐转运体(apical sodium bile acid transporter, ASBT)。胆汁酸外排转运蛋白主要有胆汁酸外排泵(bile salt export pump, BSEP)、有机溶质转运蛋白(organic solute transporters, OSTs)家族和多药耐药相关蛋白(multidrug resistance-associated protein 3, MRPs)家族^[7]。多药耐药性蛋白3(MRP3)、多药耐药性蛋白4(MRP4)属于MRPs家族成员,是常见的有机阴离子转运蛋白,主要表达于肠

道和肾脏,但在一些胆汁淤积性疾病(肠道梗阻、原发性毛细胆管性肝硬化等)发生时,作为机体适应性的代偿反应,其在肝脏的表达量明显增加,以增加胆汁酸的排泌,减轻肝细胞损伤^[8-10]。

胆汁淤积发生时,一方面肝脏组织FGF19分泌增加激活ERK信号通路,另一方面胆汁酸外排-转运蛋白MRP3和MRP4的表达水平增加。那么FGF19是否可通过ERK信号通路调控MRP3、MRP4表达水平?为解决这个问题,我们在此次实验中采用外源性FGF19处理HepG2细胞,观察FGF19是否会影响MRP3、MRP4的表达水平;并使用ERK信号通路抑制剂预处理,观察FGF19是否还可以继续影响MRP3、MRP4的表达水平。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌细胞株HepG2细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库。

1.2 试剂及仪器

DMEM培养基、胎牛血清、胰蛋白酶(trypsin)购自Gibco公司;青链霉素混合液100 \times 购自Sigma公司;蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂购自Roche公司;CYP7A1、MRP2、MRP3一抗购自Santeruz公司;MRP4一抗购自Abcam公司;ERK、p-ERK一抗购自CST公司;FGF19一抗购自Cell Signal Technology公司;GAPDH一抗购自Proteintech公司;羊抗兔二抗购自Sigma公司;FGF19细胞因子购自Peprotech公司;ERK抑制剂PD98059购自Sigma-Aldrich Chemical公司;Trizol购自Invitrogen公司;逆转录试剂盒购自TaKaRa公司。

6孔和24孔细胞培养板购自美国Costar公司;CO₂细胞培养箱购自美国Thermo Scientific公司。

1.3 细胞培养

使用加入10%胎牛血清和1%双抗的DMEM培养基,于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱,培养HepG2细胞。当细胞贴壁融合度达85%时,EDTA-胰酶消化,以细胞密度约1 \times 10⁶/mL铺于6孔板,当细胞融合生长密度为60%~80%密度时,更换新鲜培养基并加入终浓度

分别为0 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL的FGF19处理细胞,作用24 h后收取总蛋白和总RNA。相同铺板方法,当细胞融合生长至60%~80%密度时,更换新鲜培养基并加入终浓度为100 ng/mL的FGF19使其分别作用0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h收取总蛋白和总RNA。相同铺板方法,当细胞融合生长密度为60%~80%时,将其中一组更换新鲜培养基,加入终浓度为25 μ mol/L的ERK抑制剂PD98059,预处理0.5 h,再加入终浓度为100 ng/mL的FGF19;第二组更换新鲜培养基,只加入终浓度为100 ng/mL的FGF19;第三组更换新鲜培养基,加入1 μ L/mL的DMSO,作为对照组;继续培养12 h后,收取总蛋白和总RNA。

1.4 蛋白免疫印迹反应

按照Sigma公司RIPA缓冲液试剂说明书提取不同处理组细胞的总蛋白。BCA法测定蛋白浓度。在5%浓缩胶和10%分离胶中,进行SDS-PAGE凝胶电泳,上样量每孔30 μ g。浓缩胶60 V电泳直至marker完全分开,清晰可见,转换电压为100 V,继续电泳,至溴酚蓝完全跑出凝胶。常规湿法转膜后,用5%脱脂奶粉室温封闭1 h,4 $^{\circ}$ C 孵育一抗过夜(>16 h,MRP2 1:1 000、MRP3 1:1 000、MRP4 1:1 000、CYP7A1 1:2 500、GAPDH 1:50 000),回收一抗,室温孵育二抗90 min(山羊抗兔抗体1:50 000)。ECL法曝光。

1.5 实时定量荧光PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)

按Trizol说明书提取细胞总RNA,按照TaKaRa逆转录试剂盒说明书将RNA逆转录为cDNA。逆转录完成后进行qRT-PCR扩增。qRT-PCR体系(8 μ L):0.2 μ L探针、1.8 μ L 5 \times Taq缓冲液、4 μ L ddH₂O、2 μ L cDNA样品。反应条件:95 $^{\circ}$ C 1 min;95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 10 s,49个循环;95 $^{\circ}$ C 10 s,4 $^{\circ}$ C 5 min。探针信息见表1。

1.6 数据统计

使用GraphPad Prism 6软件,应用多因素方差分析进行统计,实验数据以mean \pm S.D.形式表示,* P <0.05为差异具有显著性,** P <0.01为差异极具有显著性。

2 结果

2.1 FGF19诱导肝癌细胞HepG2自分泌FGF19增加

胆汁淤积患者肝脏FGF19表达量增加,为此我们加入FGF19处理HepG2细胞^[11-12],以验证加入FGF19后对肝细胞自分泌FGF19的影响。我们分别采用0 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL的FGF19处理HepG2细胞24 h后收取细胞总蛋白和总RNA。qRT-PCR检测*FGF19* mRNA水平的表达情况,结果(图1A)所示随着FGF19作用浓度的增加可刺激细胞自分泌*FGF19* mRNA表达水平的增加。Western blot结果(图1B)所示FGF19可以刺激HepG2细胞分泌FGF19,且表达量和作用浓度正相关。随后,我们使用100 ng/mL的FGF19处理HepG2,作用时长分别为0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h,提取总蛋白和总RNA,qRT-PCR检测*FGF19* mRNA表达情况,证明细胞自分泌*FGF19* mRNA的表达水平与作用时长呈时间依赖性(图1C)。Western blot结果(图1D)所示FGF19可以刺激HepG2细胞自分泌FGF19的增加,且随着FGF19作用时间的增加FGF19蛋白的表达量也逐渐增加。以上结果表明,FGF19可以促进HepG2细胞自分泌FGF19的增加且FGF19自分泌量与加入的FGF19浓度和作用时间正相关。

2.2 HepG2肝癌细胞MRP3、MRP4的表达和FGF19具有量效关系

FGF19可促进HepG2细胞自分泌FGF19的增加,那么FGF19的表达水平是否会影响MRP3、MRP4的表达。为解答此问题,我们分别采用0 ng/mL、10 ng/mL、

表1 PCR探针信息

Table 1 The primer sequences

基因名称 Gene name	序列(5'→3') Primer (5'→3')	种属/来源 Speice/source
<i>MRP2</i>	Proprietary to ABI	Human/Hs00166123_m1
<i>MRP3</i>	Proprietary to ABI	Human /Hs00978473_m1
<i>MRP4</i>	Proprietary to ABI	Human /Hs00988717_m1
<i>CYP7A1</i>	Proprietary to ABI	Human /Hs00167982_m1
<i>GAPDH</i>	Proprietary to ABI	Human /Hs02758991_g1

50 ng/mL、100 ng/mL的FGF19处理HepG2细胞24 h后,提取总RNA,qRT-PCR检测MRP3、MRP4、MRP2和CYP7A1的mRNA水平。FGF19可抑制CYP7A1的表达^[4-5],但尚无证据表明,FGF19可调控MRP2的表达,故选择CYP7A1和MRP2分别作为本次实验的阳性对照和阴性对照。根据结果(图2A)所示,FGF19可上调MRP3、MRP4的mRNA表达水平。相同处理方式作用HepG2细胞24 h后,收取总蛋白。Western blot结果(图2B)所示,FGF19可以上调HepG2细胞MRP4、MRP3蛋白的表达水平。至此我们确定FGF19可以上调MRP3、MRP4的表达且表达量与FGF19浓度之间具有明显的量效依赖关系。

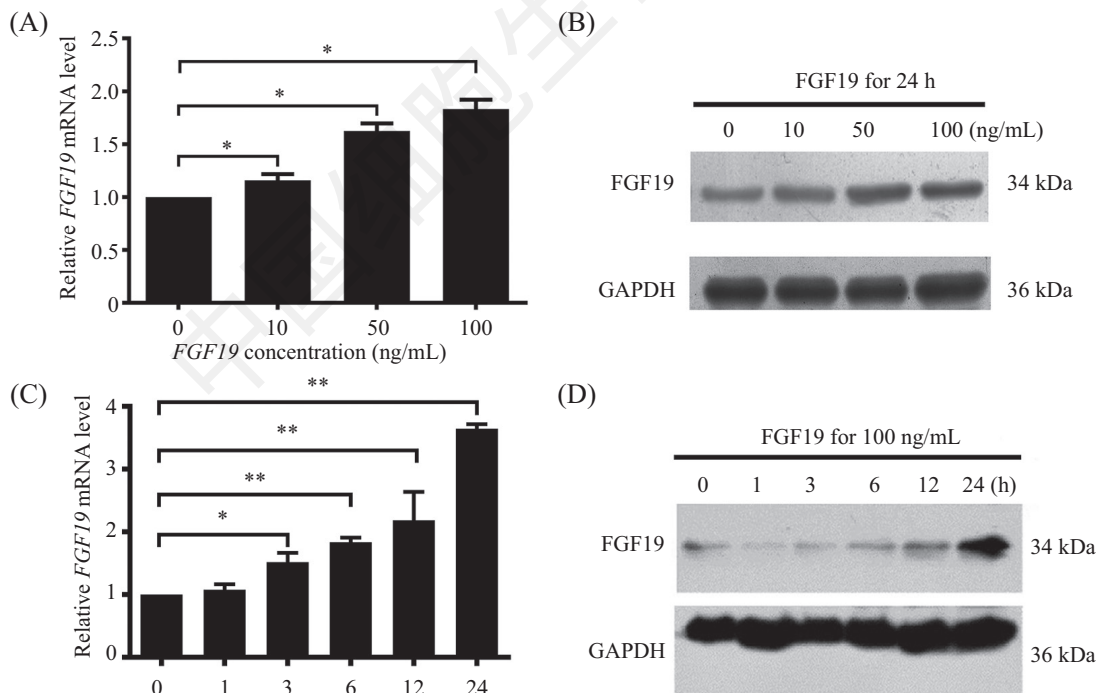
2.3 HepG2肝癌细胞MRP3、MRP4的表达与FGF19具有时间依赖性

为进一步证明MRP3、MRP4的表达和FGF19之间是否存在时间依赖关系,我们选择了100 ng/mL的FGF19分别作用HepG2细胞0 h、3 h、6 h、12 h、24 h之后,检测MRP3、MRP4 mRNA水平和蛋白水平表达变化。qRT-PCR结果(图3A)所示,随着FGF19

作用时间的增加,MRP3、MRP4 mRNA的表达量逐渐增加。Western blot结果(图3B)所示,随着FGF19作用时间的增加,MRP4、MRP3蛋白表达量也逐渐增加。即在HepG2细胞上MRP3、MRP4 mRNA水平和蛋白水平表达的增加与FGF19具有明显的时间依赖性。

2.4 FGF19通过ERK信号通路调节MRP3、MRP4的表达水平

有研究表明,FGF19可以激活ERK通路,且我们也证明了FGF19可调控MRP3、MRP4的表达水平,我们猜想FGF19可能是通过ERK信号通路来调控MRP3、MRP4的表达。为验证这一猜想,我们分别处理3组细胞,第一组为使用ERK抑制剂PD98059预处理HepG2细胞0.5 h后再加入100 ng/mL的FGF19,第二组仅加入100 ng/mL FGF19处理HepG2细胞,第三组为DMSO处理的对照组,提取三组细胞的总蛋白和总RNA,检测MRP3、MRP4表达水平。qRT-PCR结果(图4A)所示:与DMSO处理对照组细胞相比,仅仅使用FGF19处理,MRP3、MRP4的mRNA

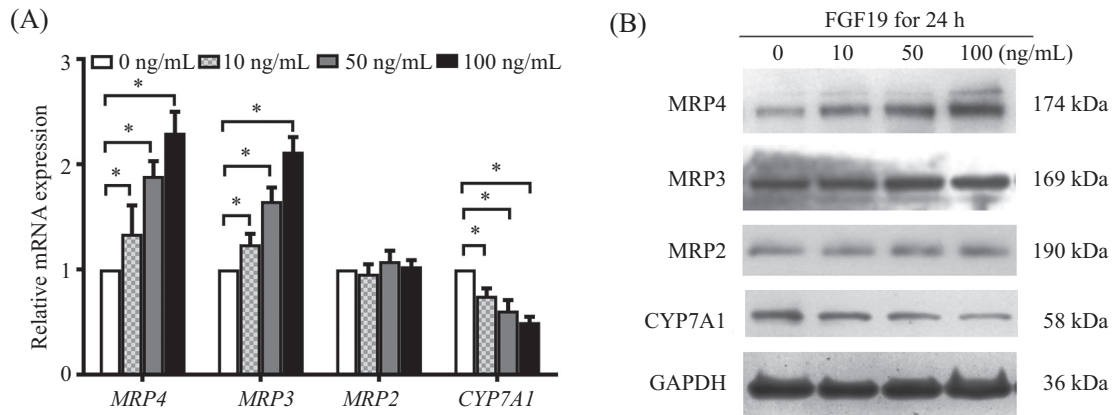


A: HepG2细胞自分泌FGF19 mRNA表达量与外源性FGF19呈剂量依赖关系; B: HepG2细胞自分泌FGF19蛋白表达量与外源性FGF19呈剂量依赖关系; C: HepG2细胞自分泌FGF19 mRNA量与外源性FGF19呈时间依赖关系; D: HepG2细胞自分泌FGF19蛋白表达量与外源性FGF19呈时间依赖关系。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

A: FGF19 mRNA expression is dose-dependent after treated HepG2 with FGF19; B: FGF19 protein expression is dose-dependent after treated HepG2 with FGF19; C: FGF19 mRNA expression is time-dependent after FGF19 treatment of HepG2; D: FGF19 protein expression is time-dependent after treated HepG2 with FGF19. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ 。

图1 FGF19刺激HepG2细胞FGF19的自分泌

Fig.1 FGF19 activate the autocrine of FGF19 in HepG2

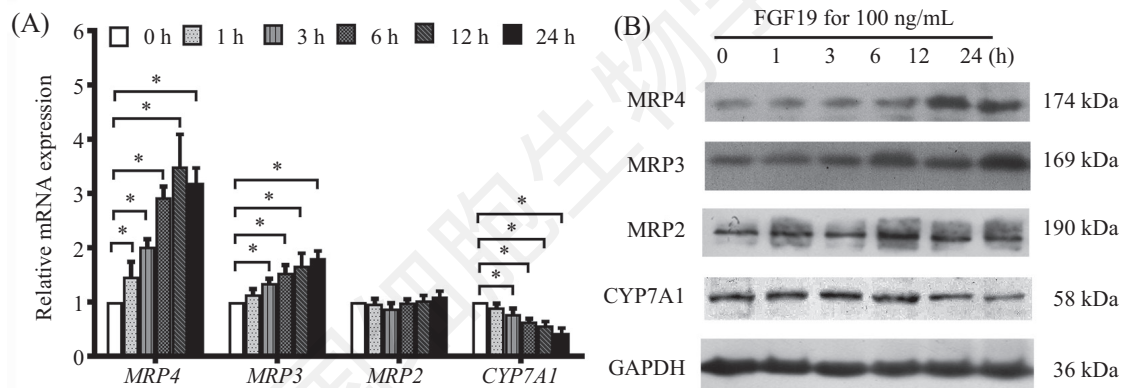


A: qRT-PCR检测MRP3、MRP4 mRNA表达与FGF19作用浓度之间存在量效关系; B: Western blot检测MRP3、MRP4蛋白表达与FGF19作用浓度的量效关系。* $P < 0.05$ 。

A: dose-dependent relationship between MRP3 and MRP4 mRNA expression and FGF19 detected by qRT-PCR; B: dose-dependent relationship between MRP3 and MRP4 protein expression and FGF19 detected by Western blot. * $P < 0.05$ 。

图2 qRT-PCR和Western blot检测FGF19处理HepG2后MRP3、MRP4表达与FGF19作用浓度之间的量效关系

Fig.2 Dose-dependent analysis of the relationship between MRP3, MRP4 expression and FGF19 after FGF19 treatment of HepG2 by qRT-PCR and Western blot



A: qRT-PCR检测MRP3、MRP4 mRNA表达与FGF19的时间依赖关系; B: Western blot检测MRP3、MRP4蛋白表达与FGF19的时间依赖关系。* $P < 0.05$ 。

A: time-dependent relationship between MRP3 and MRP4 mRNA expression and FGF19 by qRT-PCR; B: Western blot analysis of time-dependent relationship between MRP3, MRP4 protein expression and FGF19. * $P < 0.05$ 。

图3 qRT-PCR和Western blot检测FGF19处理HepG2后MRP3、MRP4表达与FGF19之间的时间依赖关系

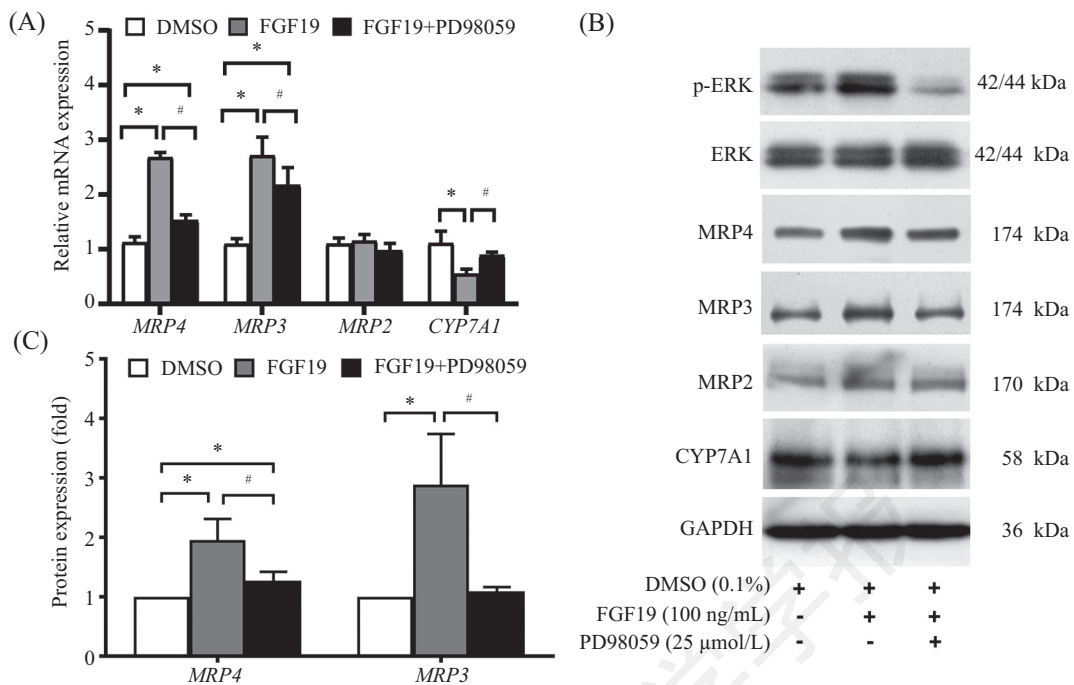
Fig.3 Time-dependent relationship between MRP3, MRP4 expression and FGF19 after FGF19 treatment of HepG2 by qRT-PCR and Western blot

水平分别增加2.56倍、2.73倍, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); ERK抑制剂和FGF19共同处理组与只加入FGF19处理组相比, MRP3、MRP4表达量明显降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Western blot结果(图4B和图4C)与qRT-PCR结果相一致。所示该结果提示我们, FGF19可通过激活ERK信号通路, 上调MRP3、MRP4的表达; 但当外加ERK信号通路抑制剂后, FGF19对MRP3、MRP4的调控则被抑制。

3 讨论

FGF19作为成纤维细胞生长因子亚家族的一员, 在很多生理学过程中发挥功能, 但因其可以同时调节胆汁酸的合成和排泄, 在胆汁酸稳态的调控过程中起到十分重要的作用^[13]。

一方面, FGF19可以调控胆汁酸的合成。当胆汁淤积时, 胆汁酸与FXR受体结合, 激活FXR, 激活后的FXR刺激肝细胞FGF19表达量增加, FGF19以内分泌的形式在肝脏激活成纤维细胞生长因子



A: 加入ERK通路抑制剂后qRT-PCR检测MRP3、MRP4 mRNA表达情况; B: 加入ERK通路抑制剂后Western blot检测MRP3、MRP4蛋白表达情况; C: MRP3、MRP4蛋白表达量相对倍数。* $P < 0.05$, # $P < 0.05$ 。

A: the expression of MRP3 and MRP4 mRNA was detected by qRT-PCR after adding ERK pathway inhibitor; B: the expression of MRP3 and MRP4 protein was detected by Western blot after adding ERK pathway inhibitor; C: the fold of relative expression of MRP3 and MRP4 protein. * $P < 0.05$, # $P < 0.05$.

图4 ERK通路抑制剂减轻FGF19对MRP3、MRP4表达的调控

Fig.4 The inhibitor of ERK pathway can alleviate the regulation of MRP3 and MRP4 expression by FGF19

受体4(fibroblast growth factor receptor 4, FGFR4)并联合SHP, 抑制胆汁酸合成经典途径关键酶CYP7A1的表达, 减少胆汁酸的合成^[14-15]。此外, 有研究表明, 即使在SHP基因沉默的肝细胞中, FGF19仍可以抑制CYP7A1的表达^[12]。另一方面, FGF19可以调节胆汁酸的排泄。近来, 研究发现了肝细胞上新的胆汁酸转运蛋白OATP3A1, 并证明FGF19可以同时通过激活ERK-SP1(specificity protein 1)特异性蛋白1信号通路促进胆汁淤积肝细胞基底侧膜OATP3A1表达量的增加, 适应性的保护肝组织^[6](图5)。

本文, 我们通过使用外源性FGF19处理HepG2细胞, 结果发现, FGF19可诱导HepG2细胞自分泌FGF19, 并上调MRP3、MRP4的表达水平。另外, 我们证明, ERK抑制剂虽然不影响外源性FGF19对细胞自分泌FGF19的调控作用, 但是ERK抑制剂可调控MRP3、MRP4的表达水平。即FGF19可通过激活ERK信号通路, 增加MRP3、MRP4的表达, 从而增加胆汁酸的外排。至此, 我们发现了FGF19、

MRP3、MRP4与ERK信号通路相互作用, 减轻肝脏胆汁淤积的机制(图5 --> 部分)。

FGF19既可以通过抑制胆汁酸合成关键酶CYP7A1的合成, 又可以增加胆汁酸排泄蛋白MRP3、MRP4等的表达, 达到抑制胆汁酸合成增加排出的效果^[12], 遂希望将FGF19应用于胆汁淤积疾病的治疗, 且研究证明, FGF19可以降低小鼠体内肝脏胆汁酸的水平, 同时降低谷草/谷丙转氨酶(AST/ALT)、碱性磷酸酶(ALP)水平^[5]。但研究发现, 当机体长期处于FGF19超生理水平的浓度时, 有潜在致癌风险, 并且FGF19有增强肿瘤细胞的抗药性风险^[14]。目前Luo^[5]和Gadaleta^[15]课题组通过制备FGF19的变体, 以期达到治疗胆汁淤积的同时避免癌症发生的目的。

综上, 我们发现了FGF19通过调控ERK信号通路, 特异性地上调MRP3和MRP4表达水平, 丰富了FGF19减轻胆汁淤积的理论基础, 增加了以此为理论依据治疗开发新的胆汁淤积治疗药物的可能性。

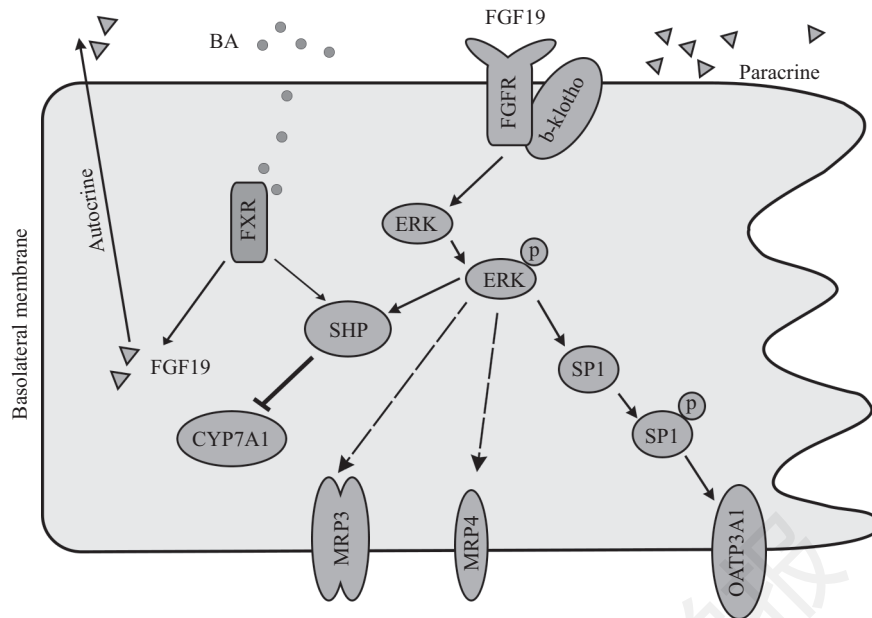


图5 FGF19通过ERK信号通路调控MRP3、MRP4表达情况

Fig.5 FGF19 regulate the expression of MRP3, MRP4 by activating the ERK pathway

参考文献 (References)

- Hirschfield GM, Heathcote EJ, Gershwin ME. Pathogenesis of cholestatic liver disease and therapeutic approaches. *Gastroenterology* 2010; 139(5): 1481-96.
- Inagaki T, Choi M, Moschetta A, Peng L, Cummins CL, McDonald JG, *et al.* Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. *Cell Metab* 2005; 2(4): 217-25.
- Modica S, Gadaleta RM, Moschetta A. Deciphering the nuclear bile acid receptor FXR paradigm. *Nucl Recept Signal* 2010; 8(5): 1-28.
- Serkan Kir, Sara AB, Varman TS, Paul M, Stephen FP, Kelly SP, *et al.* FGF19 as a postprandial, insulin-independent activator of hepatic protein and glycogen synthesis. *Science* 2001; 331: 1621-24.
- Jian Luo, Brian K, Michael Elliott, Mei Zhou, Darrin AL, Van P, *et al.* A nontumorigenic variant of FGF19 treats cholestatic liver diseases. *Sci Transl Med* 2018; 6(247): 247ra100.
- Pan Q, Zhang X, Zhang L, Cheng Y, Zhao N, Li F, *et al.* Solute carrier organic anion transporter family member 3A1 is a bile acid efflux transporter in cholestasis. *Gastroenterology* 2018; 155(5): 1578-92.
- Cai SY, Boyer JL. Bile infarcts-new insights into the pathogenesis of obstructive cholestasis. *Hepatology* 2019; 69(2): 473-5.
- Chai J, He Y, Cai SY, Jiang Z, Wang H, Li Q, *et al.* Elevated hepatic multidrug resistance-associated protein 3/ATP-binding cassette subfamily C3 expression in human obstructive cholestasis is mediated through tumor necrosis factor alpha and c-Jun NH2-terminal kinase/stress-activated protein kinase-signaling pathway. *Hepatology* 2012; 55(5): 1485-94.
- Soroka CJ, Lee JM, Azzaroli F, Boyer JL. Cellular localization and up-regulation of multidrug resistance-associated protein 3 in hepatocytes and cholangiocytes during obstructive cholestasis in rat liver. *Hepatology* 2001; 33(4): 783-91.
- 何孝崇, 柴进, 何宇, 王槐志, 陈文生. 阻塞性肝胆汁淤积下转录因子NR5A2和SP1、胆酸转运蛋白MRP3与肝脏损伤的相关性. *第三军医大学学报(He Xiaochong, Chai Jin, He Yu, Wang Huizhi, Chen Wensheng. Correlation of transcriptional factors NR5A2 and SP1, Bile transporter MRP3 with liver injury in human obstructive cholestasis. J Third Mil Med Univ) 2012; 34(24): 2474-8.*
- Juan Pablo, Arab DC, Marco Arrese. Bile acids in cholestasis and its treatment. *Ann Hepatol* 2017; 168(15): 47-51.
- Goetz R, Beenken A, Ibrahim OA. Molecular insights into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast growth factor 19 subfamily members. *MolCell Bio* 2007; 27(9): 3417-28.
- Wagner M, Trauner M. Recent advances in understanding and managing cholestasis. *F1000research* 2016; doi: 10.12688/f1000research.8012.1.
- Teng Y, Zhao H, Gao L, Zhang WF, Shull AY, Shay C, *et al.* FGF19 protects hepatocellular carcinoma cells against endoplasmic reticulum stress via activation of FGFR4-GSK3 β -NRF2 signaling. *Cancer Res* 2017; 77(22): 6215-25.
- Gadaleta RM, Scialpi N, Peres C, Cariello M, Ko B, Luo J, *et al.* Suppression of hepatic bile acid synthesis by a non-tumorigenic FGF19 analogue protects mice from fibrosis and hepatocarcinogenesis. *Sci Rep* 2018; 8(1): 17210.