

孕烷 X 受体及组成性雄甾烷受体的研究新进展

胡冰芳, 毕惠嫦, 黄 民*

(中山大学药学院, 药物代谢与药动学实验室, 广东 广州 510006)

摘要: 孕烷受体 (pregnane X receptor, PXR) 和组成性雄甾烷受体 (constitutive androstane receptor, CAR) 是核受体 (nuclear receptor, NR) 亚家族的重要成员; 为配体活化的转录因子, 能调控大量的靶基因。本文主要对其基本结构、机制及参与转录活化的辅助因子作简要介绍, 重点讲述了它们在调节药物代谢与转运、糖异生及生酮作用、脂质代谢以及炎症反应等方面的意义。通过对 PXR 及 CAR 的研究, 可以有效预测和防止药物相互作用; 为寻找疾病治疗新靶标提供方向。

关键词: 组成性雄甾烷受体; 孕烷受体; 核受体; 药物代谢酶; 糖异生; 脂质代谢; 炎症反应

中图分类号: R969

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 10-1173-05

Advances in the research of pregnane X receptor and constitutive androstane receptor

HU Bing-fang, BI Hui-chang, HUANG Min*

(Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Nuclear receptors pregnane X receptor (PXR) and constitutive androstane receptor (CAR) are originally characterized as transcription factors regulating many target genes. Recent works have revealed that these nuclear receptors play critical roles in regulating genes that encode drug metabolism enzymes and modulating hepatic energy metabolism, such as down-regulating gluconeogenesis, fatty acid oxidation, and ketogenesis, as well as up-regulating lipogenesis. Studies on PXR and CAR have important implication on drug-drug interaction (DDI) and potential disease treatment targets.

Key words: constitutive androstane receptor; pregnane X receptor; nuclear receptor; drug metabolism enzyme; gluconeogenesis; lipid metabolism; inflammation

孕烷受体 (pregnane X receptor, PXR) 和组成性雄甾烷受体 (constitutive androstane receptor, CAR) 同属于核受体 (nuclear receptor, NR) 家族, 是一种脂溶性的配体依赖转录因子; 可调节多种靶基因转录和表达。以往研究主要集中于它们对代谢性酶的调控, 随着研究的深入, 发现核受体在糖类代谢、脂质代谢、炎症调控以及维持细胞稳态方面也有重要作

用。本文重点讲述了它们对药物代谢、糖异生及生酮作用、脂质代谢以及炎症反应等方面的调控。

核受体结构上通常分为 3 个部分: N 端可变区、C 端保守区和中间高度保守的 DNA 结合域 (DNA binding domain, DBD), 转录激活区 AF-1 位于 N 端, 不依赖于激素即有转录激活作用。核受体活化后可特异性结合靶基因启动子序列, 调控其转录。研究发现, 相较于其他核受体而言, PXR 的配体结合域 (ligand binding domain, LBD) 有更为弹性的配体结合口袋, 可结合的配体结构范围也更广^[1]。不同种系中 PXR 调控特异性也有较大变化, 相对应的 LBD 序列具有

收稿日期: 2011-03-04.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81001685); 教育部博士点新教师基金资助项目 (20100171120058).

*通讯作者 Tel: 86-20-39943011, Fax: 86-20-39943000,

E-mail: huangmin@mail.sysu.edu.cn

较低同源性^[2]。Maglich 等^[3]证实, PXR C 端保守区上的 LBD 序列存在可变性, 保守性相对较低并因种系而异, 如小鼠与人的 LBDs 同源性只有 70% 左右。因此认为, LBDs 的不同能较好解释不同药物诱导细胞色素 P450 所表现出的种属差异性和 PXR 识别配体特异性^[3]。

PXR 与 CAR 的作用机制也不尽相同, 原因复杂, 其一是两者与配体结合的差异性。研究表明, CAR 可以直接或间接与配体结合; 而 PXR 只能与配体直接结合, 属于配体依赖性受体^[4]。综上, 虽然 PXR 及 CAR 同属于核受体超家族, 但两者在作用方面也有一定差别; 除了因构型不同而识别相对应的配体外, 两者在调控机制上的差异也起到了重要的作用。

1 PXR 及 CAR 对代谢酶的调控

PXR 及 CAR 调控的药物代谢酶包括对 I 相代谢酶如 CYP3A4、CYP7A1、CYP2B6、CYP2C9、CYP2C18 和 CYP2C19 等, II 相代谢酶如 UDP-葡萄糖醛酸转移酶 (UDP-glycosyltransferases, UGTs)、谷胱甘肽-S-转移酶 (glutathione S-transferases, GSTs), 以及 III 相转运体如 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp)、多药耐药蛋白 (multidrug resistance associated protein, MRP)、有机阴离子转运多肽-2 (organ anion transport polypeptides-2, OATP2) 等^[5-8](图 1)。研究表明许多药物单体都能活化 PXR/CAR, 使其与视黄醛 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 形成异二聚体, 发生胞质-核转移, 再结合到靶代谢酶基因近端启动子区的直接重复序列 (directed repeat, DR) 元件或逆向重复系列 (everted repeat, ER) 元件, 调控下游基因的转录和表达。目前认为转移过程受蛋白磷酸化的调控, 主要是 C 端富含亮氨酸序列被磷酸化, 这一现象可以被蛋白磷酸酶抑制剂冈田软海绵酸抑制^[9]。

目前研究最多的是对 CYP3A 代谢酶的调控, 通过报告基因实验发现治疗抑郁症的 St. John's wort 是能激活 PXR 并诱导 CYP3A4 表达的最典型药物^[10]。CYP2B6 除了受 CAR 通路调节也能被 PXR 激动剂所诱导。另一种代谢酶 CYP2C 也参与了多种临床常用药物的代谢。基因敲除实验证实, PXR 和 CAR 两种通路都能调控 CYP2C9 的表达^[11], 以及 CYP2C18 与 CYP2C19 等代谢酶。近期研究发现, CYP7A1 不同于其他代谢酶, 能被 PXR 所抑制。在 *Pxr*^{-/-} 鼠中, 研究者发现, PXR 可以下调 *Cyp7a1*, 限制胆汁酸的生物合成, 对胆汁酸肝脏毒性起到了重要防护作用^[12]。

II 相代谢酶主要是基团转移酶及结合酶系。PXR 对基团转移酶如 UGT 等基因存在调节作用^[13, 14]; 研

究表明, 转染 hPXR 小鼠的 UGT 对胆固醇、致癌物代谢和血红素活性增强。CAR 能调控 GSTs 对药物解毒和肿瘤耐药性的作用^[15], 也对 UGT1A 有着诱导作用。

研究证明 PXR/CAR 对药物转运体也有调控作用。P-gp 由 *MDR1* (multidrug resistance, MDR) 基因编码, PXR 可通过相距 8 kb 的远程增强子, 位置类似于 CYP3A4 基因外源性化合物反应元件 (xenobiotic response enhancer module, XREM) 处, 使 MDR1 表达增加^[16, 17]。MRP3 是一种重要的胆汁酸外排转运体, 体内外实验研究表明, 在 HepG2 细胞中核受体激动剂对靶基因有诱导, 能有效增加 MRP3 的 mRNA 的量 1.6~1.8 倍, 表现出较好的剂量依赖性^[18]。OATP2 是一种基底侧 (窦侧) 转运体, 表达于肝细胞, 参与许多两性物质包括胆汁酸和外源性物质的摄取。动物实验表明, 使用激动剂 16 α -氰基孕烯醇酮 (PCN) 对 *Oatp-2* 有诱导作用, 而在 *Pxr*^{-/-} 鼠中则不能被 PCN 诱导, 考虑 *OATP2* 是 PXR 调控的靶基因^[19]。

综上, I 相及 II 相代谢酶大多仅由 PXR 来调控, 如 CYP2A6^[20]、CYP3A7^[21]、CYP7A1^[22]等; 在 II 相代谢酶中除了 UGT1A1 是由 PXR 和 CAR 共同调控外, 大部分 UGT1A 是由 PXR 调控^[23]; III 相转运体中 MRP4 则多由 CAR 调控^[24]。PXR 及 CAR 对机体有着广泛的影响作用, 整体上 PXR 与 CAR 的影响可能相似并可以叠加; 但是随着研究的不断深入, 发现两者的调控也存在差别。就人体代谢酶及药物转运体而言, 有些调控是各自特异的, 有些是均起调控作用, 而 PXR 的调控范围更为广泛。

2 PXR 及 CAR 对能量代谢的调控

2.1 对糖类代谢的调控

肝脏糖异生是肝糖代谢的重要组成部分。磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) 和葡萄糖-6-磷酸酶 (glucose-6-phosphatase, G6Pase) 是糖异生作用的关键酶, 其转录水平决定糖异生的速度和效率, 曾报道^[25]PXR 的活化能下调小鼠 *G6Pase* 和 *Pepck1* 基因的表达。此外, 还有一系列转录因子的调控, 如 FoxO1、CREB、PGC-1 α 与胰岛素等, 也受到 PXR 及 CAR 的调控 (图 1)。早期实例表明, 长期服用苯巴比妥 (phenobarbital, PB) 能减少血液中的糖含量并能增加机体对胰岛素的敏感性^[26]。

研究表明, 糖异生的作用由多种通路调控, 而几乎每种通路都受到 PXR 及 CAR 的影响。① 转录因子 cAMP 效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 可被胰高血糖素刺激的蛋白

是肉碱棕榈酰基转移酶 1A (carnitine palmitoyltransferase, CPT1A) 及 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 2 (mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutarate-CoA synthase 2, HMGCS2)。脂肪酸在 CPT1 的作用下进入线粒体, 然后 β -氧化为机体提供 ATP 和糖异生作用所需的 NADH。

与糖异生作用的 FoxO1 相对应, FoxA2 是调节空腹时肝脏分解脂肪酸的关键开关, 同样能被胰岛素所抑制。研究证实, 胰岛素通过活化磷脂酰肌醇诱导 FoxA2 磷酸化, 产生细胞核排斥外排至胞浆, 从而抑制依赖细胞核因子 FoxA2 的代谢基因的转录。GST 融合蛋白、哺乳动物双杂交体系及电泳迁移实验表明, PXR 及 CAR 能直接与 FoxA2 转录因子结合, 抑制 *Cpt1a* 及 *Hmgcs2* 编码基因的转录; 减少 β -氧化及生酮作用^[31]。

固醇辅酶 A 去饱和酶 1 (stearoyl-CoA desaturase 1, *Scd1*) 是游离不饱和脂肪酸的关键合成酶, 能被葡萄糖及果糖上调。普遍认为 PXR 及 CAR 与胰岛素相似, 对 *Scd1* 有上调作用 (图 1)。同样作用也在编码游离脂肪酸转运体基因 *Cd36* 上观察到。有趣的是, 在未给药的情况下, *Pxr*^{-/-} 相对于 *Pxr*^{+/+} 小鼠原代肝细胞的 *Cd36* 和 *Scd1* 基因表达上调; 而且在 *Pxr*^{-/-} 小鼠血清中发现较高胰岛素浓度^[32]。并且发现, 在鼠 *Cd36* 基因启动子上包含有 PXR 的 DR3 反应元件, 由此可以认为 *Cd36* 是 PXR 的直接调控靶基因。

2.3 PXR 对炎症调控的探讨 许多研究表明 PPARs 可以抑制核因子 κ B (NF- κ B) 的表达; NF- κ B 属于诱导型核转录因子 (inducible nuclear transcription factor), 可调节细胞因子、免疫受体、黏附分子、趋化因子、氧化应激相关酶等基因的表达。通过对 NF- κ B 的下调可以抑制细胞炎症因子的表达及分泌、阻断炎症细胞的黏附和迁移, 并减弱血管收缩和血栓形成, 在抗炎及阻止动脉粥样硬化过程中发挥重要作用。如在 PPARs 激动剂处理组的小鼠大动脉中发现肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor alpha, TNF α)、细胞间黏附因子 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1) 等炎症基因的水平明显减少。

近年来, 也观察到 PXR 可以通过和 PPARs 相似的调控机制有抗炎等作用。Teng 等^[33]发现, PXR 能下调多种介导肝脏炎症的成分 (图 1)。从 *Pxr*^{-/-} 小鼠上分化而来肝细胞比野生型小鼠分离得的肝细胞有更高的 NF- κ B 靶基因表达率; 同时炎症反应也有相应的升高。Zhou^[34]发现, 典型的 PXR 激动剂如利福平, 能下调 NF- κ B 靶基因的表达, 如 TNF α 、ICAM-1、

环氧化酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, COX-2) 及多种白介素等。有趣的是, Zelcer 等^[35]证明 PXR 与 PPARs 有相同的蛋白修饰过程 SUMOylation (small ubiquitin-like modifier, SUMO)。因为在 PXR 上有与 PPARs 一致的 SUMOylation 区域, 恰好这一区域在下调 NF- κ B 上起到重要作用。

3 总结与展望

核受体 PXR 与 CAR 不仅可以调控药物代谢酶, 也在脂质调控中扮演着重要角色, 对糖类、胆固醇、脂肪酸、脂蛋白等物质的代谢过程有重要的调节作用 (图 1)。通过对 PXR 及 CAR 及其配体功能的研究, 可以有效预防药物-药物相互作用、寻找治疗心血管疾病的新靶标, 同时在多种代谢紊乱相关疾病治疗上具有重要意义。

References

- [1] Ekins S, Kortagere S, Iyer M, et al. Challenges predicting ligand-receptor interactions of promiscuous proteins: the nuclear receptor PXR [J]. *PLoS Comput Biol*, 2009, 5: 1-12.
- [2] Watkins RE, Wisely GB, Moore LB, et al. The human nuclear xenobiotic receptor PXR: structural determinant of directed promiscuity [J]. *Science*, 2001, 292: 2329-2333.
- [3] Maglich J, Sluder A, Guan X, et al. Comparison of complete nuclear receptor sets from the human, *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila genomes* [J]. *Genome Biol*, 2001: 21-27.
- [4] Tolson AH, Wang H. Regulation of drug metabolizing enzymes by xenobiotic receptors: PXR and CAR [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62: 1238-1249.
- [5] Urquhart BL, Tirona RG, Kim RB. Nuclear receptors and the regulation of drug metabolizing enzymes and drug transporters: implications for interindividual variability in response to drugs [J]. *Clin Pharmacol*, 2007, 47:566-578.
- [6] Xie W, Evans RM. Orphan nuclear receptors: the exotics of xenobiotics [J]. *Biol Chem*, 2001, 276: 37739-37742.
- [7] Klaassen CD, Slitt AL. Regulation of hepatic transporters by xenobiotic receptors [J]. *Curr Drug Metab*, 2005, 6: 309-328.
- [8] Ramadoss P, Marcus C, Perdew GH. Role of the aryl hydrocarbon receptor in drug metabolism [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2005, 1: 9-21.
- [9] Handschini C, Meyer UA. Induction of drug metabolism: the role of nuclear receptors [J]. *Pharmacol Rev*, 2003, 55: 649-673.
- [10] Moore LB, Goodwin B, Jones SA, et al. St. John'swort induces hepatic drug metabolism through activation of the pregnane X receptor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97: 7500-7502.

- [11] Chen Y, Ferguson SS, Negishi M, et al. Induction of human CYP2C9 by rifampicin, hyperforin, and phenobarbital is mediated by the pregnane X receptor [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2004, 308: 495–501.
- [12] Staudinger JL, Goodwin B, Jones SA, et al. The nuclear receptor PXR is a lithocholic acid sensor that protects against liver toxicity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 3369–3374.
- [13] Chen C, Staudinger JL, Klaassen CD. Nuclear receptor, pregnane X receptor, is required for induction of UDP - glucuronosyltransferases in mouse liver by pregnenolone-16 alpha-carbonitrile [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31: 908–915.
- [14] Sonoda J, Xie W, Rosenfeld JM, et al. Regulation of a xenobiotic sulfonation cascade by nuclear pregnane X receptor (PXR) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 13801–13806.
- [15] Xu F, Zhen YS, Shao RG. Cancer chemotherapy and drug metabolism enzyme [J]. *Prog Physiol Sci (生理科学进展)*, 2005, 36: 295–298.
- [16] Greiner B, Eichelbaum M, Fritz P, et al. The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin [J]. *Clin Invest*, 1999, 104: 147–153.
- [17] Geick A, Eichelbaum M, Burk O. Nuclear receptor response elements mediate induction of intestinal MDR1 by rifampin [J]. *Biol Chem*, 2001, 276: 14581–14587.
- [18] Teng S, Jekerle V, Piquette-Miller M. Induction of ABCC3 (MRP3) by pregnane X receptor activators [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31: 1296–1299.
- [19] Guo GL, Staudinger J, Ogura K, et al. Induction of rat organic anion transporting polypeptide 2 by pregnenolone - 16alpha - carbonitrile is via interaction with pregnane X receptor [J]. *Mol Pharmacol*, 2002, 61: 832–839.
- [20] Kojima K, Nagata K, Matsubara T, et al. Broad but distinct role of pregnane X receptor on the expression of individual cytochrome p450s in human hepatocytes [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2007, 22: 276–286.
- [21] Sueyoshi T, Negishi M. Phenobarbital response elements of cytochrome P450 genes and nuclear receptors [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2001, 41: 123–143.
- [22] Staudinger J, Liu Y, Madan A, et al. Coordinate regulation of xenobiotic and bile acid homeostasis by pregnane X receptor [J]. *Drug Metab Dispos*, 2001, 29: 1467–1472.
- [23] Vyhldal CA, Rogan PK, Leeder JS. Development and refinement of pregnane X receptor (PXR) DNA binding site model using information theory: insights into PXR-mediated gene regulation [J]. *Biol Chem*, 2004, 279: 46779–46786.
- [24] Huang R, Murry DJ, Kolwankar D, et al. Vincristine transcriptional regulation of efflux drug transporters in carcinoma cell lines [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 71: 1695–1704.
- [25] Nakae J, Kitamura T, Silver DL, et al. The forkhead transcription factor FoxO1 (Fkhr) confers insulin sensitivity onto glucose-6-phosphatase expression [J]. *Clin Investig*, 2001, 108: 1359–1367.
- [26] Lahtela JT, Arranto AJ, Sotaniemi EA. Enzyme inducers improve insulin sensitivity in non-insulin-dependent diabetic subjects [J]. *Diabetes*, 1985, 34: 911–916.
- [27] Kodama S, Moore R, Yamamoto Y, et al. Human nuclear pregnane X receptor cross-talk with CREB to repress cAMP activation of the glucose-6-phosphatase gene [J]. *Biochemistry*, 2007, 407: 373–381.
- [28] Kodama S, Koike C, Negishi M, et al. Nuclear receptors CAR and PXR cross talk with FOXO1 to regulate genes that encode drug-metabolizing and gluconeogenic enzymes [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24: 7931–7940.
- [29] Miao J, Fang S, Bae Y, et al. Functional inhibitory crosstalk between constitutive androstane receptor and hepatic nuclear factor-4 in hepatic lipid/glucose metabolism is mediated by competition for binding to the DR1 motif and to the common coactivators, GRIP-1 and PGC-1 α [J]. *Biol Chem*, 2006, 281: 14537–14546.
- [30] Sidhu JS, Omiecinski CJ. Insulin-mediated modulation of cytochrome P450 gene induction profiles on primary rat hepatocytes cultures [J]. *Biochem Mol Toxicol*, 1999, 13: 1–9.
- [31] Nakamura K, Moore R, Negishi M, et al. Nuclear pregnane X receptor cross-talk with FoxA2 to mediate drug-induced regulation of lipid metabolism in fasting mouse liver [J]. *Biol Chem*, 2007, 282: 9768–9776.
- [32] Zhou J, Zhai Y, Mu Y, et al. A novel pregnane X receptor mediated and sterol regulatory element-binding protein-independent lipogenic pathway [J]. *Biol Chem*, 2006, 281: 15013–15020.
- [33] Teng S, Piquette-Miller M. The involvement of the pregnane X receptor in hepatic gene regulation during inflammation in mice [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2005, 312: 841–848.
- [34] Zhou C. Mutual repression between steroid and xenobiotic receptor and NF-kappaB signaling pathways links xenobiotic metabolism and inflammation [J]. *Clin Invest*, 2006, 116: 2280–2289.
- [35] Zelcer N, Tontonoz P. SUMOylation and PPARgamma: wrestling with inflammatory signaling [J]. *Cell Metab*, 2005, 2: 273–275.