

·综述·

谷胱甘肽的肝脏转运及其在胆汁淤积中的作用

张雪莹, 杨 劲*, 尹雪芬, 刘晓东*, 王广基

(中国药科大学药物代谢动力学重点实验室, 江苏 南京 210009)

摘要: 谷胱甘肽是一个由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成的三肽, 具有抗氧化和解毒等功能。近年来研究发现谷胱甘肽的胆汁外排是生成非胆汁酸依赖型胆汁流的重要驱动力, 谷胱甘肽的胆汁外排受阻可引起胆汁淤积。本文对谷胱甘肽的肝脏转运通路及其在胆汁淤积中的作用的研究进展进行综述。基于谷胱甘肽对胆汁流的驱动作用, 增强谷胱甘肽的胆汁外排转运可望成为胆汁淤积防治的新靶点。

关键词: 谷胱甘肽; 肝脏转运; 多药耐药相关蛋白; 胆汁淤积

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 04-0327-06

Hepatobiliary transport of glutathione and its role in cholestasis

ZHANG Xue-ying, YANG Jin*, YIN Xue-fen, LIU Xiao-dong*, WANG Guang-ji

(Key Lab of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: Glutathione is a tripeptide comprised by *L*-glutamate, *L*-cysteine, and glycine, that serves antioxygenation and deintoxication functions within the cell. Recent study has found that glutathione is the main driving force for bile salt-independent bile flow, impaired biliary excretion of glutathione can lead to cholestasis. This review focuses on hepatobiliary transport of glutathione and its role in cholestasis. Based on the evidence of choleretic effect of glutathione, enhancement of biliary excretion of glutathione may be a good strategy for prevention and treatment of cholestasis.

Key words: glutathione; hepatobiliary transport; multidrug resistance associated protein; cholestasis

谷胱甘肽是一个由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成的三肽, 是大部分需氧生物体内主要的非蛋白巯基化合物。谷胱甘肽主要有还原型 (GSH) 和氧化型 (GSSG) 两种存在形式, 在生理情况下谷胱甘肽还原酶可迅速地将 GSSG 还原成 GSH, 因此细胞内 98% 以上的谷胱甘肽以 GSH 形式存在^[1]。谷胱甘肽的生理功能主要是抗氧化和解毒, 近年来研究发现 GSH 胆汁外排是生成非胆汁酸依赖型胆汁流重要的驱动力^[2], GSH 的转运受阻可引起胆汁淤积。目前肝内胆汁淤积的治疗存在原因不明, 机制不确定等问题。基于谷胱甘肽对胆汁流的驱动作用, 增强谷胱甘肽的胆

汁外排转运可望成为胆汁淤积防治的新靶点。本文对 GSH 的肝脏转运通路及其在胆汁淤积中的作用进行综述。

1 谷胱甘肽的合成代谢与功能

谷胱甘肽的合成是一个发生在细胞质内的两步反应, 以 *L*-谷氨酸、*L*-半胱氨酸和甘氨酸为原料, 由 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶及 GSH 合成酶催化反应, 每生成一分子 GSH 需要两分子的 ATP^[1]。谷胱甘肽代谢仅发生在细胞外, 受 γ -谷氨酰转肽酶 (gamma glutamyl transferase, γ -GT) 和二肽酶 (dipeptidase, DPT) 的催化, γ -GT 在胆小管上表达。 γ -GT 及 DPT 将谷胱甘肽分解成半胱氨酰甘氨酸、 γ -谷氨酰半胱氨酸、甘氨酸和半胱氨酸 (图 1)^[3]。

GSH 在细胞内大量存在并具有抗氧化及解毒等生理功能^[4]。另外, 近年来研究发现 GSH 还是生成

收稿日期: 2008-10-10.

*通讯作者 Tel / Fax: 86-25-83271386, E-mail: yangjingqw@263.net;

Tel: 86-25-83271006, Fax: 86-25-85306750,

E-mail: xdliu@cpu.edu.cn

非胆汁酸依赖型胆汁流的主要驱动力,可以通过促进胆汁排泄来清除体内的有害物质^[2]。

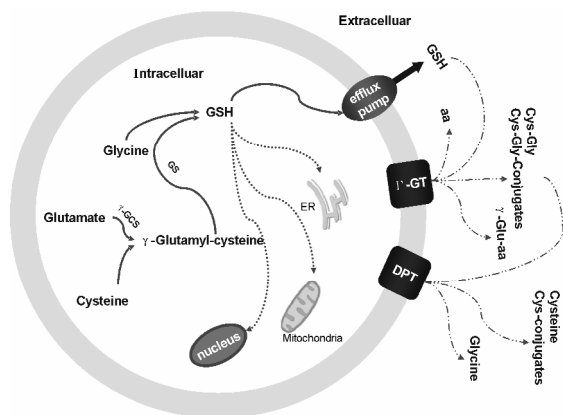


图1 谷胱甘肽的合成。 γ -GCS: γ -Glutamylcysteine synthetase; GS: Glutathione synthetase; ER: Endoplasmic reticulum

2 谷胱甘肽的转运

GSH 先在肝细胞内合成,部分通过胆小管膜上转运蛋白外排出细胞发挥作用。GSH 肝细胞外排包括小管侧和血窦侧外排,分别将 GSH 转运到胆汁及血液(图2)^[5]。GSH 排泄到胆汁被胆小管上皮细胞表面的 γ -GT 和 DPT 水解,阿西维辛可抑制 γ -GT,从而导致 GSH 的胆汁外排量升高。GSH 外排到胆汁及血液的量随着年龄的改变而变化,在 25~45 d 的幼年大鼠中有 5% 的 GSH 经胆汁排泄,在 110~170 d 的成年大鼠中有 60% 的 GSH 经胆汁排泄^[6]。

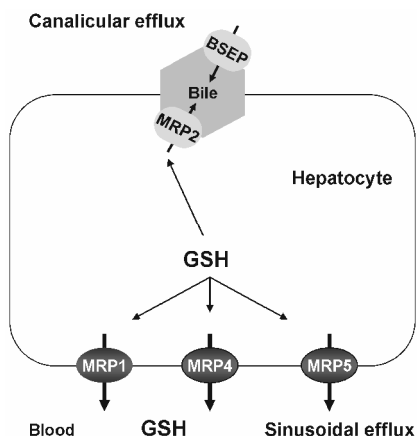


图2 谷胱甘肽的转运

谷胱甘肽在血窦侧均以 GSH 形式外排,在小管侧约 3/4 以 GSH 的形式外排,而且都由载体介导。GSH 小管侧转运存在高亲和与低亲和两种转运途径。GSH 浓度高时主要是低亲和转运,浓度低时主要是高亲和转运,GSH 高亲和转运和低亲和转运的 K_m 值各为 $100\sim 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $14\sim 17\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

GSH 的转运动力学在高亲和时呈现米氏动力学特征,在低亲和时呈现 Hill 型动力学特征,Hill 系数为 2。高亲和转运主要转运谷胱甘肽结合物、 γ -谷酰化合物及其他一些阴离子入胆汁,而低亲和转运则可能主要转运大量的 GSH 进入胆汁^[5]。GSH 在肝细胞内的浓度范围为 $5\sim 10\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,而在胆汁中的浓度范围为 $1\sim 5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。因此大约 90% 的 GSH 在生理状态下是通过低亲和途径转运的^[7]。

在肝细胞膜上存在着许多 ATP 依赖型外排转运蛋白。这些转运蛋白大部分属于多药耐药相关蛋白家族 (multidrug resistance associated protein, MRP), 其中 MRP1 (ABCC1)、MRP2 (ABCC2)、MRP4 (ABCC4) 和 MRP5 (ABCC5) 与谷胱甘肽外排相关。MRP2 是多药耐药相关蛋白家族中主要在小管膜上表达的转运蛋白,其他 MRPs 均表达在血窦膜侧,因此,MRP2 主要介导 GSH 外排入胆汁,MRP1、MRP4 及 MRP5 则介导 GSH 外排入血。

在 MRP2 突变的大鼠中,GSH 胆汁排泄缺失,显示 MRP2 可能介导 GSH 的转运^[8]。MRP2 转染的 MDCKII 细胞及膜囊泡研究中均发现 MRP2 介导 GSH 的转运主要为低亲和转运,且在 ATP 缺失的情况下 GSH 的排泄减少^[9]。另外,在表达 MRP2 同系物的鳃肝脏膜囊泡中,MRP2 底物顺式抑制 ATP 依赖性 GSH 低亲和转运, K_m 为 $(12\pm 2)\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,但其转运并不受跨膜电位及 pH 梯度解偶联剂的影响^[10]。MRP2 能够在转运 GSH 的同时协同转运一些中性化合物和阳离子化合物,在 MRP2 转染的细胞中研究显示,长春碱、磺吡酮经 MRP2 的转运均需 GSH 的参与^[11]。由于肝细胞中 GSH 浓度比较高 ($5\sim 10\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),MRP2 除了对肝脏 GSH 的更新有重要作用,其在维持胆汁流量方面也起着重要的生理作用,胆汁流可分为胆汁酸依赖型胆汁流 (bile acid-dependent flow, BADF) 和胆汁酸非依赖型胆汁流 (bile acid-independent flow, BAIF),两者对胆汁产生和排泄的贡献大约各占 50%^[12]。BADF 主要由于胆汁酸排泄入胆小管可形成一定的渗透压使水分随即进入胆管形成胆汁。Ballatori 等^[2]在离体肝灌流中给予不同浓度的 GSH,发现胆汁流量与 GSH 的排泄量密切相关,谷胱甘肽随胆汁排泄的越多,肝脏排泄的胆汁也越多,其机制可能也是由于 GSH 排入胆汁形成一定的渗透压使水分随即进入胆管形成胆汁,证实了 GSH 是 BAIF 主要的驱动力。

Marchan 等^[13, 14]在 MRP1 过度表达的细胞中研究发现细胞正常和凋亡时 GSH 的释放均显著增加,

而在 MRP1 基因敲除的胚胎干细胞中 GSH 的外排量只有野生细胞株的一半, 以上两种模型均证实 MRP1 在转运 GSH 过程中发挥重要的作用。另外, MRP1 还介导 GSH 和一些药物的协同转运, GSH 能够通过调节三磷酸腺苷酶的活性来调节 MRP1 功能将其他药物外排出细胞^[15]。GSH 可能也是 MRP4 和 MRP5 的底物。在 HepG2 细胞中 MRP4 过度表达的量与 GSH 外排增加量呈正相关。转染 MRP5 的 MDCKII 细胞血窦膜侧 GSH 外排升高且同时伴有细胞内 GSH 水平下降^[16, 17]。

3 MRP2 转运功能损伤导致的胆汁淤积

肝脏是毒性化合物从体内清除的主要场所, 胆汁排泄是许多毒性化合物的代谢及消除途径。胆汁流分为 BADF 及 BAIF 两种, MRP2 在胆管侧外排谷胱甘肽, 是 BAIF 主要的驱动力^[2]。MRP2 在肝细胞小管侧表达水平的降低或表达缺失, 会减少谷胱甘肽随胆汁的排泄, 若谷胱甘肽的胆汁排泄长时间被抑制就可能使胆汁流量减少, 使体内代谢物或毒物在肝内蓄积, 形成胆汁淤积。临床上与 MRP2 受损相关的常见胆汁淤积病有 Dubin-Johnson 综合征、雌激素及药物诱导性胆汁淤积等。

3.1 Dubin-Johnson 综合征 Dubin-Johnson 综合征的主要表现为高胆红素血症和肝脏黑色素沉着, 但并无肝病且肝脏代谢酶正常^[18], 结合型胆红素的胆汁排泄主要由 MRP2 介导, MRP2 缺失可以引起高胆红素血症^[19]。Eisai hyperbilirubinuria 大鼠 (EHBRs) 是缺失 MRP2 的动物模型, 与人类 Dubin-Johnson 综合征非常类似, EHBRs 缺失 Mrp2 导致谷胱甘肽及其结合物等有机阴离子的胆汁排泄受阻, 进而促使胆汁淤积^[8]。Wada 等^[20]对 4 名 Dubin-Johnson 综合征患者的 mRNA 及编码 MRP2 基因组的 DNA 进行分析, 发现 1 个患者在基因剪切位点突变, 另外 3 个患者在 ABC 转运体的核苷酸结合区错义突变或缺失突变。Kartenbeck 等^[21]也发现 Dubin-Johnson 综合征患者肝细胞膜上的 MRP2 缺失, 证实 MRP2 基因突变是导致人类 Dubin-Johnson 综合征的主要原因。能引起 ABCC2 蛋白缺失的基因突变类型有导致外显子丢失和提前终止密码子的剪切位点突变、错义突变、促使 MRP2 第二核苷酸结合部位两个氨基酸缺失的突变、插入突变及导致提前终止密码子的无义突变。虽然这些突变均能导致 Dubin-Johnson 中小管膜 MRP2 的缺失, 但其对 MRP2 的合成及功能的影响程度各异^[22]。

3.2 药物及激素诱导性胆汁淤积 GSH 的胆汁外排受阻能够引起胆汁淤积, 一些药物和毒物可能通过干

扰 MRP2 介导的 GSH 转运机制诱导胆汁淤积。这些药物和毒物对 MRP2 的干扰方式可能有以下三种: 一是在 DNA、mRNA 及蛋白表达各水平上减少 MRP2 的表达; 二是直接抑制 MRP2 的活性; 三是不影响 MRP2 的表达和活性, 但改变 MRP2 在细胞膜上的分布情况。第三种情况可能主要受细胞内囊泡内吞及外排的调节, 内吞过程是将转运蛋白回收入细胞内囊泡的重要步骤, 外排过程是将转运蛋白由细胞内囊泡嵌入到目的细胞膜侧的重要步骤, 内吞过程受促进或外排过程受抑制都会使小管侧外排转运蛋白 MRP2 的蛋白密度降低, 从而导致谷胱甘肽等有机阴离子的排泄减少, 最终引起胆汁淤积^[23]。目前已发现与上述途径相关的导致胆汁淤积的药物和毒物有雌激素、鬼笔环肽、脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS)、牛磺石胆酸 (tauro lithocholic acid, TLCA) 等 (表 1)。药物及激素诱导性胆汁淤积时有报道, 由于新生儿和早产儿肝肾功能发育不全, 在小儿用药时尤其要注意, Lorchv 等^[32]报道早产儿应用维生素 E 治疗胆汁淤积的发生率为 10%, 更有高达 50% 的死亡率。此时对药物及激素导致胆汁淤积的机制研究就显得重要, 确切了解胆汁淤积的发生机制可为新药研发和胆汁淤积的治疗提供依据, 以便有效降低胆汁淤积的发生率和死亡率。

表 1 MRP2 转运相关的能够致胆汁淤积的常见药物及化合物

药物/化合物	可能机制	参考文献
雌激素	通过促进囊泡内吞使 Mrp2 在小管侧含量减少	[24, 25]
鬼笔环肽	通过促进囊泡内吞使 Mrp2 在小管侧含量减少	[26]
环孢素 A	直接抑制小管膜上 Mrp2 活性	[27]
西罗莫司	直接抑制小管膜上 Mrp2 活性	[28]
牛磺石胆酸	通过抑制囊泡外排使 Mrp2 在小管侧含量减少	[29]
脂多糖	通过影响转录后调节使 MRP2 在小管侧表达量减少	[30]
西酞普兰	使 MRP2 重新分配至血窦侧	[31]
帕罗西汀	使 MRP2 重新分配至血窦侧	[31]

临床上应用雌激素治疗的患者常会诱发肝脏胆汁淤积, 且已有雌激素导致胆汁淤积动物模型的建立, 雌激素可能是通过促进小管膜上 Mrp2 内吞回收进入细胞内囊泡, 使小管膜上 Mrp2 转运功能降低, GSH 胆汁外排受损, 促使非胆汁酸依赖型胆汁流减少从而引起胆汁淤积。此外, 雌激素的代谢产物葡萄糖醛酸雌二醇 (estradiol-17 β -D-glucuronide, E2-17G)

也能显著减少胆汁流和胆汁谷胱甘肽外排达 80%, 在 80 min 时虽然胆汁流已经部分恢复但谷胱甘肽外排仍然被抑制, E2-17G 顺式抑制谷胱甘肽的小管转运, 通过抑制非胆汁酸依赖型胆汁流而引起胆汁淤积^[24, 25]。大鼠妊娠期体内雌激素水平会升高, 妊娠期大鼠肝脏中 Mrp2 mRNA 不变但 Mrp2 蛋白含量降低 50%, 显示出妊娠对 Mrp2 表达有转录后调控的功能^[33]。离体肝灌流研究显示, Mrp2 经典底物 DNP-SG 在妊娠期大鼠的胆汁分泌显著减少且妊娠期大鼠伴随 Mrp2 表达量减少^[34]。

与雌激素相似, 鬼笔环肽是一个致肝脏毒性和胆汁淤积的药物, 可使 Mrp2 及其他小管膜转运蛋白回收入细胞, 细胞膜上 Mrp2 密度降低, 降低胆汁流从而诱导胆汁淤积^[26]。免疫抑制剂环孢霉素 A 经肝脏代谢, 急性环孢霉素 A 中毒诱导胆汁淤积, 与正常对照组相比胆汁流、胆汁 GSH 外排、胆盐和胆固醇外排减少 20%~40%, 长期给予环孢霉素 A 可抑制 GSH 的胆汁外排从而导致胆汁流量的降低^[27]。与环孢霉素 A 相似, 西罗莫司也能减少胆汁流和 GSH 胆汁外排达 30%~50%^[28]。近年来还发现了一种可造成胆汁淤积的胆酸——TLCA。TLCA 可通过磷脂酰肌醇 3-激酶和蛋白激酶 C 依赖型途径使肝胆管细胞外排过程受阻, 小管侧 Mrp2 的蛋白密度降低, 从而导致其排泄谷胱甘肽等有机阴离子减少^[29]。

Elferink 等^[30]对 LPS 诱导的胆汁淤积机制进行了研究, 应用免疫荧光显微技术观察 LPS 用药组肝脏在给药后 24 h 小管膜侧几乎看不到 MRP2 染色, 也未观察到肝细胞内膜囊泡被染色。且与对照组相比, LPS 用药组中人类肝脏 MRP2 mRNA 水平也无改变。此研究表明, LPS 诱导的人类胆汁淤积通过转录后调节使 MRP2 在小管侧减少。Milkiewicz 等^[31]报道了两例由于服用抗抑郁药西酞普兰和帕罗西汀而引起胆汁淤积的临床病例。通过对这两例患者进行肝脏 MRP2 免疫染色, 发现患者肝脏血窦膜侧膜染色较深, 但在正常人的肝脏中仅发现小管膜侧染色, 在肝血窦膜侧无染色。因此抗抑郁药诱导的人类胆汁淤积是对膜上的转运蛋白进行重新分配而引起的, 说明一些药物诱导胆汁淤积导致 MRP2 的变化存在种属差异, 在大鼠中 Mrp2 改变主要发生在转录调节, 而在人类中 MRP2 改变主要发生在转录后调节。

4 胆汁淤积的治疗和预防

胆汁淤积的治疗首先要找出造成胆汁淤积的病因, 如胆道炎症或结石所致的梗阻可通过抗炎治疗和取石, 药物诱导性胆汁淤积可及时停药或改变治疗方

案。

临床上使用一些易导致胆汁淤积的药物时需谨慎, 在联合用药时可以选择促进胆汁分泌的同类药物以预防胆汁淤积的发生, 例如器官移植患者在选择使用免疫抑制剂时若环孢霉素 A 和西罗莫司同时使用则易导致胆汁淤积, 但他克莫司和西罗莫司联合使用则可能避免胆汁淤积的发生, 这是由于环孢霉素 A 和西罗莫司均能减少胆汁流和抑制胆汁分泌 GSH, 但他克莫司却可促进胆汁流及促进 GSH 的分泌, 可以对抗西罗莫司可能造成的胆汁淤积^[28]。另外, 若在胆汁淤积的患者中使用主要经胆汁排泄的药物时, 可能会使主要经胆汁排泄的药物在体内的清除率降低, 使药物在体内蓄积, 血药浓度升高, 增加不良反应的发生率, 临床上对于在胆汁淤积的患者中使用这些药物时需要引起警惕, 这个课题的研究作者实验室正在进行中。

临床上常用的治疗胆汁淤积的药物有熊去氧胆酸、腺苷蛋氨酸及一些有利胆退黄作用的中药等。虽然利胆退黄的药物均能增加胆汁流, 但其作用机制却并不相同。有些药物通过促进 BADF 来发挥利胆作用, 有些药物通过促进 BAIF 来发挥利胆作用, 还有些药物则对两种途径都有促进作用。胆汁酸及谷胱甘肽分别是 BADF 和 BAIF 的主要驱动力, 介导胆汁酸及谷胱甘肽胆汁外排的小管膜转运蛋白 BSEP 及 MRP2 均可作为胆汁淤积治疗的新靶点。另外, 本实验室的近期研究还发现, 一些药物在正常大鼠中对 MRP2 介导的谷胱甘肽的外排有暂时性抑制作用, 但却并不改变 BAIF, 但在胆汁淤积的大鼠中却同时增加 BADF 及 BAIF, 其中的机制比较复杂, 部分可能由于这些药物对受损的肝细胞有一定的保护作用, 整体提高肝细胞的水平, 从而增强肝细胞分泌胆汁的能力(待发表)。

随着分子生物学的发展, 对 MRP2 等转运蛋白的研究也逐渐深入, 从 MRP2 在细胞内转录及表达, 到细胞内囊泡的内吞回收及小管膜上的外排嵌入的过程逐渐被揭开。药物可以通过影响上述各个环节来提高小管膜上 MRP2 密度, 从而增加谷胱甘肽的外排以缓解胆汁淤积。中药复方茵陈蒿汤临床上主要用于治疗黄疸, 其主要的活性成分是京尼平。近年来的研究发现, 京尼平能够通过增强细胞外排作用来增加 Mrp2 在小管膜上的蛋白含量, 使胆汁流量及谷胱甘肽排泄量与对照组相比增多达 230%及 336%^[35]。多剂量给予螺内酯也能够增加谷胱甘肽的胆汁分泌, 螺内酯显著增加 Mrp2 蛋白表达并在最后一次给药后

3 h 同时增加 Mrp2 mRNA 水平达 50%^[36]。熊脱氧胆酸及 2, 4, 6-三羟苯丙酮都可以通过刺激小管膜上 Mrp2 来增强胆汁分泌^[37, 38]。

对胆汁淤积机制的探讨及对治疗胆汁淤积创新药物的开发并没有完结, 生成 MRP2 的各个环节还受许多的核受体及转录因子的调节, 如法尼酯衍生物 X 受体在人肝细胞中能够诱导 MRP2 的表达, 另外, 磷脂酰肌醇-3 激酶和蛋白激酶 C 亚型介导 MRP2 的转录后变化^[39]。寻找特异性的高亲和配体来激活核受体, 弄清楚参与对抗胆汁淤积的各个转录因子并将其用到治疗胆汁淤积中对科研工作者来说都是艰巨的任务。

References

- [1] DeLeve LD, Kaplowitz N. Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity [J]. *Pharmacol Ther*, 1991, 52: 287–305.
- [2] Ballatori N, Truong AT. Glutathione as a primary osmotic driving force in hepatic bile formation [J]. *Am J Physiol*, 1992, 263: G617–G624.
- [3] Abbott WA, Meister A. Intrahepatic transport and utilization of biliary glutathione and its metabolites [J]. *Biochemistry*, 1986, 83: 1246–1250.
- [4] Balendiran GK, Dabur R, Fraser D. The role of glutathione in cancer [J]. *Cell Biochem Funct*, 2004, 22: 343–352.
- [5] Ballatori N, Dutczak WJ. Identification and characterization of high and low affinity transport systems for reduced glutathione in liver cell canalicular membranes [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269: 19731–19737.
- [6] Ookhtens M, Maddatu T. Mechanism of changes in hepatic sinusoidal and biliary glutathione efflux with age in rats [J]. *Am J Physiol*, 1991, 261: G648–G656.
- [7] Mittur AV, Kaplowitz N, Kempner E, et al. Novel properties of hepatic canalicular reduced glutathione transport revealed by radiation inactivation [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 1998, 274: 923–930.
- [8] Ito K, Suzuki H, Hirohashi T, et al. Molecular-cloning of canalicular multispecific organic anion transporter defective in EHBR [J]. *Am J Physiol*, 1997, 272: G16–G22.
- [9] Paulusma CC, van Geer MA, Evers R, et al. Canalicular multispecific organic anion transporter/multidrug resistance protein 2 mediates low-affinity transport of reduced glutathione [J]. *Biochem J*, 1999, 338: 393–401.
- [10] Rebbear JF, Connolly GC, Henson JH, et al. ATP-dependent GSH and glutathione S-conjugate transport in skate liver: role of an Mrp functional homologue [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2000, 279: G417–G425.
- [11] Evers R, De Haas M, Sparidans R, et al. Vinblastine and sulfinpyrazone export by the multidrug resistance protein MRP2 is associated with glutathione export [J]. *Br J Cancer*, 2000, 83: 375–383.
- [12] Oude Elferink RP, Meijer DK, Kuipers F, et al. Hepatobiliary secretion of organic compounds; molecular mechanisms of membrane transport [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1241: 215–268.
- [13] Marchan R, Hammond CL, Ballatori N. Multidrug resistance-associated protein 1 as a major mediator of basal and apoptotic glutathione release [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778: 2413–2420.
- [14] Lorico A, Rappa G, Finch RA, et al. Disruption of the murine MRP (multidrug resistance protein) gene leads to increased sensitivity to etoposide (VP-16) and increased levels of glutathione [J]. *Cancer Res*, 1997, 57: 5238–5242.
- [15] Loe DW, Almquist KC, Deeley RG, et al. Multidrug resistance protein (MRP)-mediated transport of leukotriene C4 and chemotherapeutic agents in membrane vesicles. Demonstration of glutathione-dependent vincristine transport [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271: 9675–9682.
- [16] Lai L, Tan TM. Role of glutathione in the multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4)-mediated efflux of cAMP and resistance to purine analogues [J]. *Biochem J*, 2002, 361: 497–503.
- [17] Wijnholds J, Mol CA, van Deemter L, et al. Multidrug-resistance protein 5 is a multispecific organic anion transporter able to transport nucleotide analogs [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 7476–7481.
- [18] Kondo T, Kuchiba K, Ohtsuka Y, et al. Clinical and genetic studies on Dubin-Johnson syndrome in a cluster area in Japan [J]. *Jpn J Hum Genet*, 1974, 18: 378–392.
- [19] Kitamura T, Jansen P, Hardenbrook C, et al. Defective ATP-dependent bile canalicular transport of organic anions in mutant (TR-) rats with conjugated hyperbilirubinemia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 3557–3561.
- [20] Wada M, Toh S, Taniguchi K, et al. Mutations in the canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT) gene, a novel ABC transporter, in patients with hyperbilirubinemia II/Dubin-Johnson syndrome [J]. *Hum Mol Genet*, 1998, 7: 203–207.
- [21] Kartenbeck J, Leuschner U, Mayer R, et al. Absence of the canalicular isoform of the MRP gene-encoded conjugate export pump from the hepatocytes in Dubin-Johnson syndrome [J]. *Hepatology*, 1996, 23: 1061–1066.
- [22] Nies AT, Keppler D. The apical conjugate efflux pump

- ABCC2 (MRP2) [J]. *Pflugers Arch*, 2007, 453: 643–659.
- [23] Kipp H, Arias IM. Intracellular trafficking and regulation of canalicular ATP-binding cassette transporters [J]. *Semin Liver Dis*, 2000, 20: 339–351.
- [24] Mottino AD, Veggi LM, Wood M, et al. Biliary secretion of glutathione in estradiol 17 β -D-glucuronide-induced cholestasis [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 307: 306–313.
- [25] Mottino AD, Cao J, Veggi LM, et al. Altered localization and activity of canalicular Mrp2 in estradiol-17 β -D-glucuronide-induced cholestasis [J]. *Hepatology*, 2002, 35: 1409–1419.
- [26] Bouchard G, Yousef IM, Barriault C, et al. Role of glutathione and oxidative stress in phalloidin-induced cholestasis [J]. *J Hepatol*, 2000, 32: 550–560.
- [27] Moran D, De Buitrago JM, Fernandez E, et al. Inhibition of biliary glutathione secretion by cyclosporine A in the rat: possible mechanisms and role in the cholestasis induced by the drug [J]. *J Hepatol*, 1998, 29: 68–77.
- [28] Deters M, Nolte K, Kirchner G, et al. Comparative study analyzing effects of sirolimus-cyclosporin and sirolimus-tacrolimus combinations on bile flow in the rat [J]. *Dig Dis Sci*, 2001, 46: 2120–2126.
- [29] Beuers U, Denk GU, Soroka CJ, et al. Tauro lithocholic acid exerts cholestatic effects via phosphatidylinositol 3-kinase-dependent mechanisms in perfused rat livers and rat hepatocyte couplets [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 17810–17818.
- [30] Elferink MG, Olinga P, Draaisma AL, et al. LPS-induced down regulation of MRP2 and BSEP in human liver is due to a posttranscriptional process [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, 287: G1008–G1016.
- [31] Milkiewicz P, Chilton AP, Hubscher SG, et al. Antidepressant induced cholestasis: hepatocellular redistribution of multidrug resistant protein (MRP2) [J]. *Gut*, 2003, 52: 300–303.
- [32] Lorch V, Murphy D, Hoersten L, et al. Unusual syndrome among premature infants: associated with a new intravenous vitamin E product [J]. *Pediatrics*, 1985, 75: 598–601.
- [33] Cao J, Huang L, Liu Y, et al. Differential regulation of hepatic bile salt and organic anion transporters in pregnant and postpartum rats and the role of prolactin [J]. *Hepatology*, 2001, 33: 140–147.
- [34] Cao J, Stieger B, Meier PJ, et al. Expression of rat hepatic multidrug resistance-associated proteins and organic anion transporters in pregnancy [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 283: G757–G766.
- [35] Shoda J, Miura T, Utsunomiya H, et al. Genipin enhances Mrp2 (Abcc2)-mediated bile formation and organic anion transport in rat liver [J]. *Hepatology*, 2004, 39: 167–178.
- [36] Ruiz ML, Villanueva SS, Luquita MG, et al. Mechanisms involved in spironolactone-induced cholestasis in the rat. Role of multidrug resistance-associated protein 2 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 69: 531–539.
- [37] Crocenzi FA, D'Andrea V, Catania VA, et al. Prevention of Mrp2 activity impairment in ethinylestradiol-induced cholestasis by ursodeoxycholate in the rat [J]. *Drug Metab Dispos*, 2005, 33: 888–891.
- [38] Tradtrantip L, Piyachaturawat P, Soroka CJ, et al. Phloracetophenone-induced cholestasis in rats is mediated through Mrp2 [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293: G66–G74.
- [39] Pauli-Magnus C, Meier PJ. Hepatobiliary transporters and drug-induced cholestasis [J]. *Hepatology*, 2006, 44: 778–787.